



TITLE:

京都大学再生医科学研究所年報 2000

AUTHOR(S):

CITATION:

京都大学再生医科学研究所年報 2000. 京都大学再生医科学研究所年報
2001, 3

ISSUE DATE:

2001-02-28

URL:

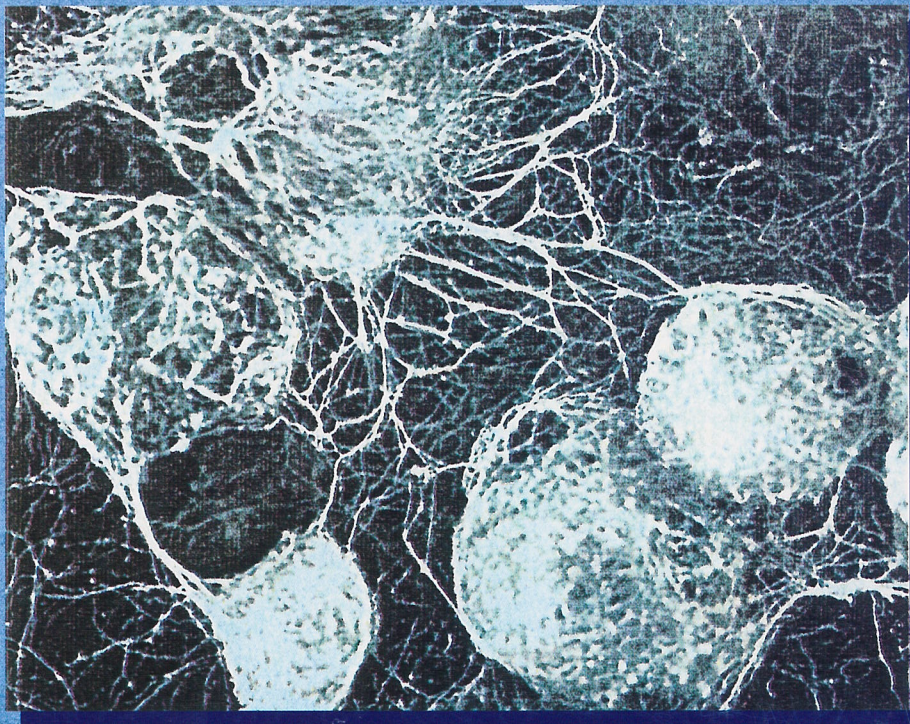
<http://hdl.handle.net/2433/50573>

RIGHT:

京都大学

再生医科学研究所年報

Annual Report of the Institute for Frontier Medical Sciences
Kyoto University



〈第3巻〉

2000
平成12年

表紙写真

胚性幹細胞（ES 細胞）は着床前の初期胚から分離・樹立された細胞株で、適切な条件下では未分化のまま無限に増殖することができる。一方、分化誘導条件下には様々な体の細胞に分化することも知られている。本研究所の再生誘導分野で開発された SDIA 法では、マウスの ES 細胞から 9 割以上の細胞を選択的に神経細胞に分化させることができる。写真は12日程度試験管内で分化させた神経細胞を神経特異的抗体（TuJ）で染色したもので、すでに様々な神経ネットワークが構築されていることを示している。この分化誘導系を用いて、神経難病に対する細胞移植治療が期待されている。

目 次

1. 巻頭言	1
2. 京都大学再生医科学研究所概要	
2-1 沿革	2
2-2 教員数等	2
(1) 教員	2
(2) 大学院生・研修員・研究生	2
2-3 組織図	3
3. 研究概要と研究業績	
生体機能学研究部門	
細胞機能調節学分野	4
生体微細構造学分野	10
生体機能調節学分野	12
シミュレーション医工学分野	16
生体組織工学研究部門	
生体分子設計学分野	28
生体材料学分野	32
組織修復材料学分野	45
再生統御学研究部門	
発生分化研究分野	49
再生誘導研究分野	54
再生増殖制御学分野	60
再生免疫学分野	63
生体システム医工学研究部門	
医用システム工学分野	68
生体機械工学分野	72
再生医学応用研究部門	
組織再生応用分野	77
器官形成応用分野	85
臓器再建応用分野	93
附属再生実験動物施設	100
4. 学術集会	
4-1 再生医科学研究所シンポジウム	104
4-2 セミナー	104
4-3 研究発表会	106
4-4 学術講演会・シンポジウム・研究会	107
5. 協議員・教職員名簿	112

1. 巻 頭 言

再生医科学研究所は改組後3年を終える。当初、個々の研究者の業績、方向性は改組前からの継続であったことは否めなかったが、この間、教授会で繰り返し行った議論と昨年2年目で早過ぎたかも知れない外部評価による助言によって、本来、研究所が目指すべき「生体組織及び臓器の再生に関する学理及びその応用の研究」に向けて共通の視点を持ち、それぞれが協力しあい切磋琢磨する良好な雰囲気の研究所となってきた。各分野における研究活動も目覚ましいものがあり、単に学術発表に留まらず、多くの報道関係の取材を受け、研究所の存在価値の広報と一般社会への啓蒙の役をはたした。平成12年度の企画をみても、部局間でのRI設備共同利用の試み、国際シンポジウム、東京ビッグサイトで開催された「21世紀夢の技術展」、そして、後述する幹細胞医学研究センター（仮称）設立構想など全研究所の叡智を結集しての取り組みであった。

平成12年度の最大目標は研究棟（実験動物施設を含む）の新営であった。京都大学全体としては工学研究科の桂坂プロジェクトを初めとして多くの建物の要求があるという厳しい状況下にあったが、補正予算により総合研究実験棟（実験動物施設）の新営が認められた。これはウイルス研究所、遺伝子実験施設との3部局共同利用の形で承認されたもので、京都大学事務局はじめ多くの関係諸氏のご協力によるところが大きい。ご支援に感謝する。この施設は、単に本研究所の動物施設の拡張と言うよりは、本研究所が中心となって京都大学の生物系を巻き込み、再生医学の基礎・基盤研究に取組み、全国・世界に発信する拠点としての意味を持たせたい。この建設によって、一部の研究室の移動が必要であったり、臨床応用に関係してくる動物施設についての検討が必要になるが、将来的展望に立つとそれぞれに益するものである。

平成13年度の最大目標は幹細胞医学研究センター（仮称）の設立である。その目的は、政府の「ヒトES細胞の樹立及び使用に関する指針」の施行を待ってからであるが、本研究所においてヒトES細胞の樹立、保存、解析、全国の研究機関への配布、有用性検定、安全性検定に関する技術の確立。将来的には、ES細胞や組織幹細胞から現実に利用可能な有用細胞に効率よく産生するシステムの確立。次世代組織工学を用いた実用に耐えうる細胞加工技術の確立へと発展させる。ミレニアム・プロジェクトによって予算化された機関全てがこれを確立できるとは考えられず、ヒトES細胞を外国から輸入しての研究が予定されているとまで聞くが、再生医学の臨床応用を目指す本研究所からこそ世界に発信すべきことを関係方面の方々に理解していただくことが肝要である。これまた、設備と人員が不可欠であり文部科学省と積極的に折衝したい。さらに、この企画には生命倫理に関する合意が必須であり、「京都大学医学部医の倫理委員会」を日本におけるモデルとさせるまで完成された星野一正名誉教授に全面的なご助言をいただいて準備をすすめている。

以上のようなプロジェクトを着実に遂行することによって、将来は、現有勢力に新進気鋭の研究者が参入し有機的な活動が営まれCOEとして日本をリードしていく研究所になることと確信している。

平成13年1月

所 長 山 岡 義 生

2. 京都大学再生医科学研究所概要

2-1 沿 革

本研究所は、平成10年4月9日に設置された。その前身である胸部疾患研究所は、昭和16年3月に「結核の予防及び治療」を主軸とする結核研究所として設置され、昭和42年6月には結核胸部疾患研究所に名称変更、さらに昭和63年4月には「胸部疾患に関する学理及びその応用の研究」を目的とした胸部疾患研究所への全面改組が行われたが、胸部疾患に関する研究・治療を取り巻く社会的要請の変化から、胸部疾患研究所は57年間にわたる使命を終え、平成10年度より、同研究所基礎系分野及び臨床系分野の一部を人工臓器の研究・開発に関して顕著な業績を挙げて来た生体医療工学研究センターと統合し、さらに実地臨床医学を行う医学研究科との協力により、「生体組織及び臓器の再生に関する学理及びその応用の研究」を目的とする再生医科学研究所に改組・転換された。

改組・転換に伴い、胸部疾患研究所の臨床系分野の一部と研究所附属病院は、大学院医学研究科・医学部並びに医学部附属病院へそれぞれ引き継がれた。

本研究所は、生体機能学、生体組織工学、再生統御学、生体システム医工学、再生医学応用の5大研究部門（19研究分野、3客員分野）と附属再生実験動物施設で組織され、疾患によって侵された臓器や組織を自己組織の再生過程を通じて構築された新たな組織と入れ換える再生医科学の開発を目指している。

2-2 教 員 数 等

(1) 教 員 （平成13年1月1日現在）

区 分	教 授	助 教 授	助 手	計
定 員	18 (2) <1>	16 (1)	5	39 (3) <1>

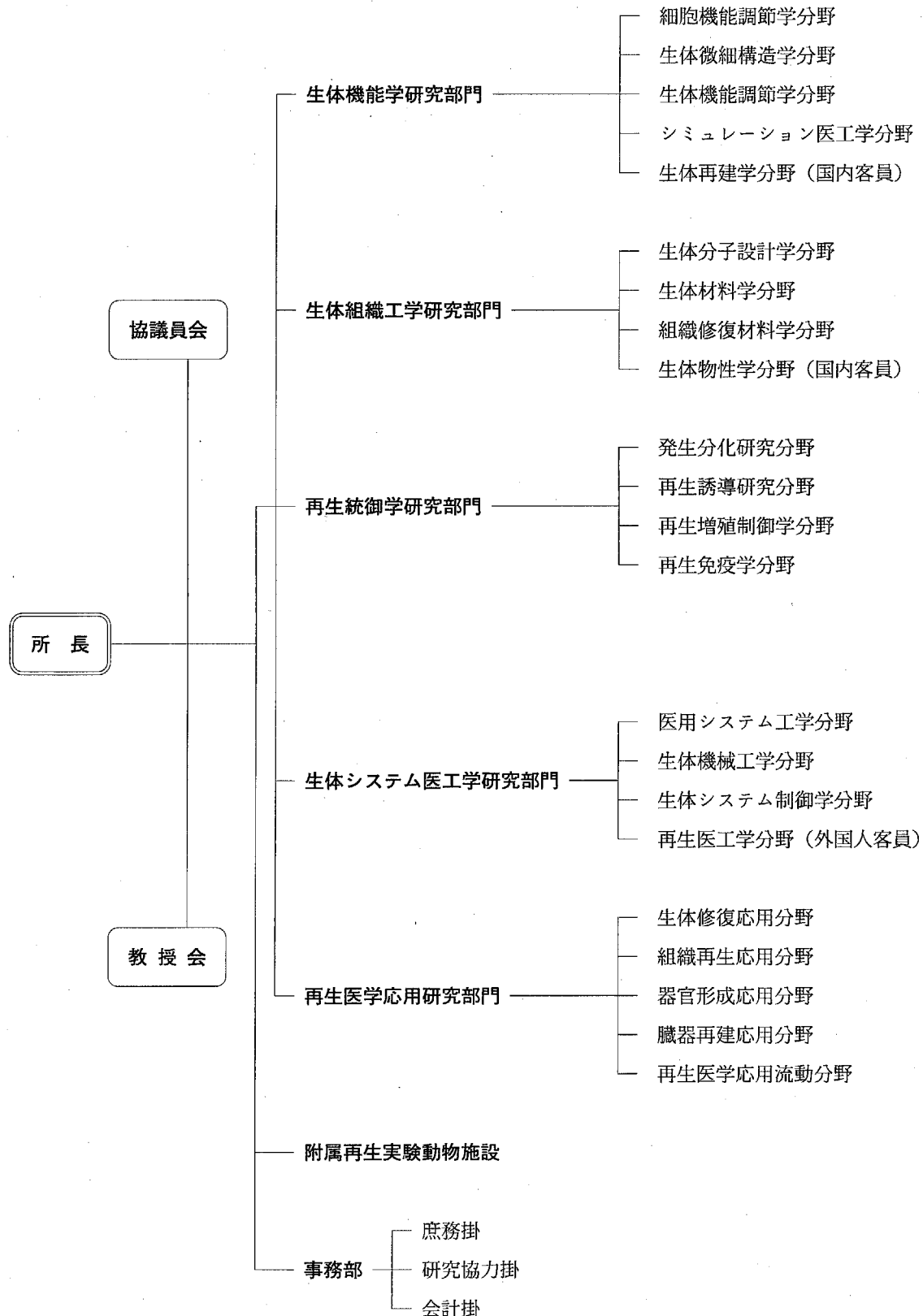
() は国内客員で外数

< > は外国人客員で外数

(2) 大学院生・研修員・研究生 （平成13年1月1日現在）

大 学 院 生	研 修 員	研 究 生	外国人共同研究者
59	3	21	2

2-3 組織図



3. 研究概要と研究業績

生体機能学研究部門

細胞機能調節学分野

Department of Molecular and Cellular Biology

【研究概要】

細胞機能調節学分野においては、ストレス応答とストレス蛋白質／分子シャペロンの機能を中心に研究を進めている。中井彰助手が山口大学医学部医化学教授として転出し、後任に久保田広志助手が新たに加わった。それを受けて本年からは、次の3つの研究課題を中心に研究を進めることになった。

第1のテーマはこれまで通り、HSP47の機能と発現、およびその発生、再生、病態における役割に関するものである。HSP47は、コラーゲンに結合能を持ったストレス蛋白質であり、小胞体とゴルジ間をシャトルのように往復しながら、プロコラーゲンの合成や分泌に関わっている基質特異的分子シャペロンである。HSP47は機能的にコラーゲンと関係しているだけでなく、一方で常にコラーゲンの発現と相関していることが明らかにされている。各種繊維化疾患において劇的に発現誘導されるだけでなく、マウスの発生の各時期においても、HSP47とコラーゲンの両者は空間的・時間的に一致して発現していることが明らかになっている。

昨年度までに、HSP47遺伝子のノックアウトに成功し、HSP47欠損マウスは、コラーゲンの分子異常を引き起こして、10日目以降で、胎生致死になり、HSP47がマウスの発生に必須の遺伝子であることを明らかにした。I型コラーゲンの異常を反映して、組織中にコラーゲン繊維束がほとんど見られないこと、IV型コラーゲンの異常を反映して、基底膜がずたずたに破壊されていることが明らかになった。基底膜の形成にとってHSP47が必須の役割を担っているという事実は、発生、再生という現象にHSP47がまた必須の役割を担っていることを示唆しており、基底膜を介した発生・再生現象の制御という観点から、研究を進めていく必要がある。組織中での基底膜の形成、HSP47をヘテロ、ダブルにノックアウトしたES細胞からembryoid bodyを形成させ、そこにおける基底膜形成の異常などについて研究を進めている。

第2のテーマとして今年度から始まった小胞体における新生糖蛋白質の品質管理に関わる新規蛋白質 EDEMの研究がある。小胞体に変性蛋白質が蓄積すると、それが小胞体ストレスとなり、小胞体内のストレス蛋白質が誘導される。細川暢子は、最近このような小胞体ストレスによって誘導される新たな遺伝子を発見し、EDEMと名付けた。EDEMは、 α -マンノシダーゼ様の1次構造を持つが、酵素活性は持たず、正しくfoldingされない糖蛋白質の分解に関与することが明らかになった。小胞体における変性蛋白質は、いったん小胞体から細胞質ゾルへ逆輸送され、ユビキチン・プロテアソーム系によって分解される。これをERAD (ER-associated degradation) と呼ぶが、糖蛋白質はERADにまわされるために、マンノースが9個から8個にまでトリミングされる必要がある。EDEMはこのマンノース8型のmal-folded糖蛋白質のみを認識し、ERADへと導くのに必須の蛋白質であることがわかった。これまで謎であったMan8 lectinの分子実体として大きな注目を集めている。

第3のテーマとして、久保田広志が中心となって進めている細胞質シャペロニン CCTに関する研究がある。CCTは、ヒトを始めとするあらゆる真核生物に必須の分子シャペロンであり、細胞内でアクチンやチューブリン

などの蛋白質について、生合成直後から分子構造の成熟 (folding) をさせるために不可欠である。CCT は二重ドーナツ様の構造をした16量体で、8種類のサブユニットにより構成される。これらの個々サブユニットの役割と機能そして発現制御機構を解明すること、さらには、CCT 複合体としての細胞機能に対する役割を明らかにすることを目的として研究を行なっている。久保田らは、CCT サブユニットの発現が化学ストレスにより誘導されること、CCT の細胞内での分解がプロテアソーム系依存的であること、そして、アルファサブユニットの発現が転写因子 ZNF143 と ZNF76 により制御されることを見出した。また、リュウマチ様自己免疫疾患の患者血清中の抗 CCT 抗体価が健常人より有意に高いことも明らかにした。

The major topics in the Department of Molecular and Cellular Biology is to study the stress response and the regulation and function of molecular chaperone/stress proteins. We are focusing mainly on three topics in this field.

We found and cloned the gene of a novel stress protein HSP47 which resides in the endoplasmic reticulum (ER) acting as a collagen-specific molecular chaperone in the pathway of collagen biosynthesis, processing and secretion. HSP47 specifically and transiently binds to various types of collagen in the ER. In addition to the binding specificity to collagen, the expression of HSP47 is always closely correlated with those of collagens during the normal development of mouse embryo as well as in the pathophysiological conditions including liver and renal fibrosis.

We have succeeded in making knockout mice lacking *hsp47* gene, which resulted in causing the embryonic lethality at 10.5 dpc in *hsp47*^{-/-} homozygotic mice. In these homozygotic mice, the maturation of type I collagen was abnormal and the immature form of procollagen accumulated in the tissues. Collagen fibrils in mesenchymal tissues were hardly observed in homozygous mice. The processing of type IV procollagen was also impaired, and basement membranes were discontinuously disrupted between the epithelial and mesenchymal tissues. This is the first finding revealing that the knockout of a chaperone protein causes the abnormality in molecular maturation of its substrate. We are now under investigation on the mechanism of basement membrane biogenesis using knockout mice and/or embryoid bodies using *hsp47*^{-/-} ES cells.

The second project in our lab is the study of a novel ER-resident stress protein, EDEM, which was found and cloned by Nobuko Hosokawa in our lab. The quality control mechanism in the endoplasmic reticulum (ER) discriminates correctly folded proteins from misfolded polypeptides and determines their fate. Once the proteins synthesized in the ER are terminally misfolded, they are retrotranslocated from the ER and degraded by the cytoplasmic proteasome, a mechanism known as ER-associated degradation (ERAD). We have cloned the *Edem* cDNA, a mouse gene encoding a putative type II transmembrane protein in the ER. Expression of *Edem* mRNA was induced by various types of ER stress. While the luminal region of EDEM has some similarity to Class I α -mannosidases involved in N-glycan processing, EDEM protein did not have enzymatic activity. Overexpression of EDEM in human embryonic kidney 293 cells accelerated the degradation of misfolded α 1-antitrypsin, and EDEM bound to this misfolded glycoprotein. These data suggest that EDEM is directly involved in ERAD, and possibly targets misfolded glycoproteins to degradation in an N-glycan dependent manner.

The third project in our lab is on the expression and function of cytosolic chaperonin CCT (chaperonin

containing t-complex polypeptide 1), which is mainly conducted by Hiroshi Kubota in our lab. CCT is a molecular chaperone that acts in the eukaryotic cytosol, and is known to assist in the folding of actin, tubulin and other proteins in the presence of ATP. CCT complex contains 16 subunits and has a dodecameric structure with 8-fold rotational symmetry. Eight subunit species of CCT are commonly found in mammalian somatic cells. We found that CCT is upregulated by chemical stress, and that proteasome-ubiquitin system is involved in the degradation of CCT in the cell. We also found that autoantibody titers against CCT in rheumatic autoimmune disease patients are significantly higher than those in healthy control, and that the expression of the gene encoding CCT alpha subunit is regulated by transcription factors ZNF143 and ZNF76.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- N. Nagai, M. Hosokawa, S. Itoharu, E. Adachi, T. Matsushita, N. Hosokawa & K. Nagata: Embryonic lethality of molecular chaperone Hsp47 knockout mice is associated with defects in collagen biosynthesis. *J. Cell Biol.* 150(6): 1499-1505 2000.
- T. Koide, A. Aso, T. Yoriizu, & K. Nagata: Conformational requirements of collagenous peptides for recognition by the chaperone protein HSP47. *J. Biol. Chem.* 275(36): 27957-27963 2000.
- S. Yokota, M. Kitahara & K. Nagata: Benzylidene lactam compound, KNK437, a novel inhibitor of acquisition of thermotolerance and heat shock protein induction in human colon carcinoma cells. *Cancer Research* 60: 2942-2948 2000.
- N. Hosokawa & K. Nagata: Procollagen binding to both prolyl 4-hydroxylase/protein disulfide isomerase and HSP47 within the endoplasmic reticulum in the absence of ascorbate. *FEBS. Letters.* 466(1): 19-25 2000.
- H. Karahashi, K. Nagata, K. Ishii & H. Amano: A selective inhibitor of p38 MAP kinase, SB202190, induced apoptotic cell death of a lipopolysaccharide-treated macrophage-like cell line, J774.1 *Biochim. Biophys. Acta* 1502: 207-223 2000.
- A. Nakai, M. Suzuki, M. Tanabe: Arrest of spermatogenesis in mice expressing an active heat shock transcription factor 1. *EMBO J.* 19: 1545-1554 2000.
- H. Kubota, S. Yokota, H. Yanagi and T. Yura: Transcriptional regulation of the mouse cytosolic chaperonin subunit gene *Ccta*/t-complex polypeptide 1 by selenocysteine tRNA subunit gene transcription factor family zinc finger proteins. *J. Biol. Chem.* 275, 28641-28648 2000.
- S. Yokota, H. Yanagi, T. Yura and H. Kubota: Upregulation of cytosolic chaperonin CCT subunits during recovery from chemical stress that causes accumulation of unfolded proteins. *Eur. J. Biochem.* 267, 1658-1664 2000.
- S. Yokota, T. Kayano, T. Ohta, M. Kurimoto, H. Yanagi, T. Yura and H. Kubota: Proteasome-dependent degradation of cytosolic chaperonin CCT. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 279, 712-717 2000.

- S. Yokota, D. Hirata, S. Minota, T. Higashiyama, M. Kurimoto, H. Yanagi, T. Yura and H. Kubota: Autoantibodies against cytosolic chaperonin CCT in human sera with rheumatic autoimmune diseases: comparison with antibodies against other HSP60 family proteins. *Cell Stress Chaperones* 5, 337-346 2000.
- M. Matsuda, T. Koide, T. Yoriuzi, N. Hosokawa & K. Nagata: Molecular cloning of a novel ubiquitin-like protein, UBIN, that binds to ER targeting signal sequences. *Biochem Biophys Res Commun.* (In press)
- O. Matsushita, T. Koide, R. Kobayashi, K. Nagata & A. Okabu: Substrate recognition by the Collagen-binding Domain of *Clostridium histolyticum* Class I Collagenase. *J. Biol. Chem.* (In press)
- M. Kikuchi, C. Takeda, Y. Tsujimoto, S. Asada & K. Nagata: A single chain Fv fragment 2A3 specific for native lysozyme: Isolation from a human synthetic phage display antibody library and characterization. *J. Biochem.* (In press)
- S. Murakami, Y. Toda, T. Seki, E. Munetomi, Y. Kondo, T. Sakurai, Y. Fukukawa, M. Matsuyama, T. Nagata, N. Hosokawa & K. Nagata: Heat shock protein(HSP)47 and collagen are upregulated during neointimal formation in the balloon-injured rat carotid artery. *Atherosclerosis* (in press)
- M. Naitoh, N. Hosokawa, H. Kubota, T. Tanaka, H. Shirane, M. Sawada, Y. Nishimura & K. Nagata: Upregulation of HSP47 and collagen type III in the dermal fibrotic disease, keloid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (In press)
- N. Hosokawa, I. Wada, K. Hasegawa, T. Yoriuzi, L. O. Tremblay, A. Herscovics & K. Nagata: A novel ER α -mannosidase-like protein accelerates ER-associated degradation. *EMBO Reports* (In press)
- K. Nakatsukasa, S. Nishikawa, N. Hosokawa, K. Nagata & T. Endo: Mnl1p, an α -mannosidase-like protein in yeast *Saccharomyces cerevisiae*, is required for ER associated degradation of glycoproteins. *J. Biol. Chem.* (In press)

2) 著書・総説

- K. Nagata: Significance of the Real-Time Analysis of Biological Interactions. "Real-Time Analysis of Biomolecular Interactions" (Eds. K. Nagata & H. Handa) Springer 2000, pp. 3-9.
- J. Nishizawa & K. Nagata: Ischemia/reperfusion injury and heat shock proteins. "Heat Shock Proteins in Myocardial protection" Medial Intelligence Unit16 Landes Bioscience. pp. 121-134 (2000)
- J. Nishizawa & K. Nagata: Induction of Heat-Shock Proteins in Ischemic Heart and Myocardial Protection. "Thermotherapy for Neoplasia, Inflammation, and Pain" (Eds. M. Kosaka et al.) Springer pp. 382-391 (2000)
- T. Koide, S. Asada & K. Nagata: Interaction of Collagen-specific Molecular Chaperone HSP47 with Collagen-model Peptides Peptide Science 1999 (Ed. N. Fujii) The Japanese Peptide Society (2000), pp. 17-20
- H. Kubota, Heat Shock Proteins: HSP60 Family Genes. In 'Encyclopedia of Stress, Volume II'. G. Fink, Ed. (Academic Press: San Diego, California), pp. 347-350 (2000)
- 永田和宏：タンパク質の合成と機能発現. 岩波講座「現代医学の基礎」第2巻「分子・細胞の生物学Ⅱ－細胞」：71-96
- 永田和宏：コラーゲン特異的分子シャペロン HSP47 の機能と線維化疾患「細胞内の物質輸送メカニズム」(自然科学

学社): 57-77

永田和宏: 分子シャペロンと蛋白質の品質管理. 感染炎症免疫 Vol. 30-3: 12-20 (2000)

永田和宏: 分子シャペロン. "Molecular control of neuronal death" News Vol. 4-3: 2-3 (2000)

永田和宏: 遺伝子破壊による分子シャペロン HSP47 の機能解析. H11年度共同研究報告集 (長崎大学熱帯医学研究所2000): 101

永田和宏: 分子シャペロンの基礎と病態 — HSP47 を一例として —. Medical Tribune 1999.12.16号: 28

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

A. Nakai, M. Suzuki, M. Tanabe: Arrest of spermatogenesis in mice expressing an active heat shock transcription factor 1. Cold Spring Harbor Meeting on Molecular Chaperone & the Heat Shock Response (2000.5.3-7 Cold Spring Harbor)

N. Hosokawa, I. Wada, K. Hasegawa, T. Yoriuji, and K. Nagata: Molecular cloning of a mouse endoplasmic reticulum protein similar to a mononucleosidase, which is induced by ER stress. Cold Spring Harbor Meeting on Molecular Chaperone & the Heat Shock Response (2000.5.3-7 Cold Spring Harbor)

H. Kubota, S. Yokota, H. Yanagi, and T. Yura: Expression and function of cytosolic chaperonin CCT in mammalian cells. Cold Spring Harbor Meeting on Molecular Chaperone & the Heat Shock Response (2000.5.3-7 Cold Spring Harbor)

大橋誠治, 山本靖彦, 永田和宏, 高橋利和, 安部秀斉, 岡本 宏, 山本 博, 土井俊夫: 糖尿病性腎症モデルにおけるコラーゲン特異的シャペロン蛋白 HSP47 の発現増強とその抑制. 腎臓病学会 (2000.5.11-13 名古屋)
久保田広志, 横田伸一, 柳 秀樹, 由良 隆: 細胞質シャペロニン CCT のプロテアソーム依存的分解. 第73回日本生化学学会大会 (2000.10.11-13 横浜)

S. Ohashi, Y. Yamamoto, K. Nagata, T. Takahashi, H. Abe, H. Okamoto, H. Yamamoto, T. Doi: An inhibitor of AGF formation (OPB-9195) ameliorated the expression of collagen specific molecular chaperone (HSP47) in mouse diabetic nephropathy American Society of Nephrology (2000.10.11-16 Ontario)

細川暢子, 和田郁夫, 長谷川聖高, 頼藤徹也, 永田和宏: マウス Edem 蛋白質は小胞体関連分解 (ERAD) を促進する. 第53回細胞生物学会大会 (2000.10.30-11.2 福岡)

久保田広志, 横田伸一, 柳 秀樹, 由良 隆: 細胞質シャペロニン CCT の細胞周期に依存した発現と機能の制御. 第53回細胞生物学会大会 (2000.10.30-11.2 福岡)

内藤素子, 細川暢子, 久保田広志, 澤田正樹, 永田和宏: コラーゲン特異的分子シャペロン HSP47 のケロイドにおける発現上昇. 第53回細胞生物学会大会 (2000.10.30-11.2 福岡)

渡邊芳彦, 頼藤徹也, 細川暢子, 野崎和彦, 橋本信夫, 永田和宏: マウス神経膠細胞に特異的に発現するコラーゲン様タンパク質の解析. 第53回細胞生物学会大会 (2000.10.30-11.2 福岡)

佐藤啓二, 蓬田健太郎, 和田崇之, 頼藤徹也, 西宗義武, 細川暢子, 永田和宏: 精巣と卵巣に特異的に発現するマウス新規コラーゲン様タンパク質 COL-TO の解析. 第53回細胞生物学会大会 (2000.10.30-11.2 福岡)

内藤素子, 細川暢子, 久保田広志, 西宗義武, 澤田正樹, 白根博文, 田中敏憲, 永田和宏: I 型, III 型コラーゲンと分子シャペロン HSP47 のケロイドにおける発現上昇. 第5回臨床ストレス蛋白質研究会 (2000.11.25)

東京)

久保田広志, 柳 秀樹, 由良 隆, 永田和宏: マウス細胞質シャペロニンサブユニット遺伝子 Cctd の転写制御機構. 第23回日本分子生物学会年会 (2000.12.13-16 神戸)

佐藤啓二, 蓬田健太郎, 和田崇之, 頼藤徹也, 西宗義武, 細川暢子, 永田和宏: 精巣・卵巣特異的に発現する新規コラーゲン様タンパク質 COL-TO の解析. 第23回日本分子生物学会年会 (2000.12.13-16 神戸)

2) 特別講演・シンポジウム等

永田和宏: 分子シャペロン HSP47 の動態と機能. CREST 公開シンポジウム「生体防御のメカニズム」——細胞分子動態と生体機能—— (2000.1.17 東京)

永田和宏: 遺伝子破壊による HSP47 機能の解析. 長崎大学熱帯医科学研究所共同研究集会 (2000.1.18 長崎)

永田和宏: 分子シャペロン HSP47 の遺伝子破壊による機能解析: 基質への影響と発生異常. 金沢大学ガン研究所特別セミナー (2000.2.1 金沢)

永田和宏: 分子シャペロンによるコラーゲンの quality control と形態形成制御. 第2回生体組織工学シンポジウム未来開拓「再生医工学」生体組織工学プロジェクト (2000.3.23 吹田)

K. Nagata: Substrate recognition by HSP47 and its possible functions in the collagen biosynthesis. Workshop “REGULATION AND FUNCTION OF HEAT SHOCK PROTEINS” (2000.5.2-3 Cold Spring Harbor)

K. Nagata, N. Nagai and N. Hosokawa: Collagen-specific molecular chaperone HSP47 is essential for the correct folding and/or assembly of procollagen and for the development of mouse embryo. Cold Spring Harbor Meeting on Molecular Chaperone & the Heat Shock Response (2000.5.3-7 Cold Spring Harbor)

永田和宏, 永井尚子: コラーゲン特異的分子シャペロン HSP47 は, コラーゲンの正常合成およびマウス発生に必須である. マトリックス研究会シンポジウム (2000.5.23-24 東京)

永田和宏: コラーゲン特異的分子シャペロン HSP47 の機能と線維化疾患. 第5回東京肝臓シンポジウム (2000.5.27 東京)

永田和宏: 分子シャペロン. 文部省特定領域研究「神経細胞死制御」ワークショップ (2000.6.27 軽井沢)

久保田広志: 細胞質シャペロニン CCT のサブユニット構成比変化を伴うシャペロニン機能変化. 日本生物物理物学会第38回年会 (2000.9.13 仙台)

永田和宏: 分子シャペロン. 秋田大学医学部特別講義 (2000.10.4 秋田)

永田和宏: 分子シャペロンによる蛋白質の品質管理. 秋田大学医学部大学院特別セミナー (2000.10.4 秋田)

細川暢子, 和田郁夫, 長谷川聖高, 頼藤徹也, 永田和宏: 小胞体関連分解 (ERAD) を促進する小胞体 α -mannosidase 様蛋白質の機能解析. 第73回日本生化学学会大会 (2000.10.11-13 横浜)

久保田広志: 細胞質シャペロニン CCT 複合体のサブユニット種特異的発現変化による機能制御. 特定領域研究「分子シャペロンによる細胞機能制御」若手ワークショップ (2000.12.1 下呂町)

生体微細構造学分野 Department of Ultrastructural Research

【研究概要】

本研究分野では以下のような研究を行っている。

肺胞上皮細胞の分化に関する研究 細胞増殖因子の活性制御に関与する、ヘパラン硫酸の硫酸化を行う硫酸基転移酵素について検討している。培養ラット肺胞Ⅱ型上皮細胞が、低密度培養では細胞伸展に伴ってヘパラン硫酸-N-硫酸転移酵素 (NDST) を高発現し、この酵素が細胞伸展と密接な関連があることが示唆された。高密度培養ではこの酵素の発現はみられないが、チロシンリン酸化阻害剤 herbimycin A (HM) 存在下では、顕著に NDST の発現が誘導された。この作用はプロテアソーム (PS) 阻害剤に拮抗され、PS 感受性の誘導抑制因子が発現制御に関与すると推定された。HMあるいは低密度培養で誘導される NDST の発現は、共にリチウムにより阻害され、同時に細胞伸展が顕著に阻止された。低密度培養ではベータカテニンの mRNA の増加や蛋白レベルで細胞の不溶性分画に顕著な増加が認められ、リチウムによる変化と考え合わせると、肺胞上皮細胞の伸展と NDST 発現にベータカテニンが何らかの関与をしていることが疑われた。また、NDST に対する抗体を用いて、正常組織および傷害組織における発現について検討する。 (文責 鈴木)

遺伝子の転写調節機構に関する研究 転写調節の重要な一過程である Paused polymerase の成立過程の解析を中心に研究を展開している。本年度は、主に以下の点で成果を得た。

1. Paused polymerase が観察される代表的な遺伝子であるショウジョウバエ hsp70 遺伝子の転写制御領域に種々の変異を導入して解析したところ、TATA 及び DPE 領域がその成立に重要であることを明らかにした。クロマチン構造も含めた状況下での遺伝子の動態を観察するため、現在トランスジェニックフライを作成中である。
2. ショウジョウバエ HSP70 遺伝子は、その遺伝子の転写調節領域に、GAGA 因子結合領域を持つ。クロマチンのリモデリング因子として働く GAGA 因子は、ショウジョウバエ中で paused polymerase の成立に重要な働きをするが、transient transfection を用いた semi in vivo といえる状況で解析し、転写そのものに関与していることを明らかにした。GAGA 因子の各機能ドメインを単独で働かせたところ、Q rich ドメインにその主たる活性があり、その機能は転写の初期過程への関与であることを明らかにした。
3. 新しい解析方法として、RNA aptamer の導入を図っている。アプタマーは、機能を持つ RNA 分子のことで、高次構造によって、特定の物質に対して結合し、抗体や酵素のように種々の機能を発揮する。この分子を用いることにより、初期転写複合体における TBP (TATA 結合因子)、TAF60 (DPE に結合すると思われる因子) の機能の解析を試みている。 (文責 平芳)

In this department the following studies are in progress.

Transdifferentiation of alveolar epithelial cells The modulation of expression of glucosaminyl N-deacetylase/sulfotransferase (NDST) mRNA by protein kinase inhibitors was studied in cultured rat type II epithelial cells. Herbimycin A markedly increased the expression of NDST mRNA in cells cultured at high density and this elevation was completely blocked by simultaneous addition of a proteasome inhibitor, lactacystin or MG132. Lithium chloride inhibited the NDST expression induced by herbimycin A or induced in low density culture. Beta-catenin was upregulated in low density culture,

both at the mRNA and protein level, especially, in the insoluble fraction in the latter. These results suggested some relation of β -catenin to the expression of NDST and type II cell spreading. The expression of NDST in normal and pathological tissues is to be studied immunohistochemically.

Mechanism of gene transcription Understanding of preinitiation complex is a most important step to understand the whole transcription. We focused on Paused polymerase which show us a frozen structure of preinitiation complex. Our recent data suggested importance of TATA and DPE element in a promoter in establishment of paused polymerase. We introduced a new methodology "aptamer" for detail analyses of preinitiation complex. Aptamer is an RNA molecule with function such as binding ability to other molecule, enzymatic activity and so on. Employment of aptamer as a tool for dissecting complex would provide an innovative method. As a first approach, we are selecting aptamer against to TBP bind to TATA and TAF60 bind to DPE. These aptamers will show us the architecture of that complex. Another progress occurred in the analysis of GAGA factor (GAF). GAF is well known as a chromatin-remodeling factor. Our study revealed that GAF acts as a transcription activator and its activation domain is located in Q rich domain. GAF can bind RNA polymerase II directly, but we can't understand the meaning of this phenomenon. Our result gives a clue to reveal another function of GAF in a process of transcription.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Li, Z-Y., Hirayoshi, K., Suzuki, Y: Expression of N-deacetylase/sulfotransferase and 3-O-sulfotransferase in rat alveolar type II cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 279: L292-L301, 2000.
- Ueda, M., Hasegawa, S., Nakamura, T., Hirata, T., Fukuse, T., Suzuki, Y., Wada, H: Effects of dibutyl cyclic adenosine monophosphate on the ultrastructure of endothelial cells in rat lungs cold preserved for 15 hours. *Eur. Surg. Res.* 32(5): 289-296, 2000.
- Umezawa, M., Takeda, T., Kogishi, K., Higuchi, K., Matsushita, T., Wang J., Hosokawa, M: Serum lipid concentrations and mean life span are modulated by dietary polyunsaturated fatty acids in the Senescence-Accelerated Mouse. *J. Nutrition* 130: 221-227, 2000.
- Wang, J., Matsushita, T., Kogishi, K., Xia, C., Ohta, A., Chiba, T., Nakamura, A., Kondo, H., Mori, M., Hosokawa, M., Higuchi, K: Wild type apoA-II gene does not rescue Senescence-accelerated mouse (SAMP1) from short life span and accelerated mortality. *J. Gerontol.* 55A: B432-439, 2000.
- 鈴木康弘, 李 中原, 田代勝巳, 小林 勉: 肺Ⅱ型上皮細胞への脂質および蛋白症患者 SP-C の取り込みにおける乖離. *日本界面医学会雑誌* 31 (1, 2): 17-25, 2000.
- Hanada, K., Solchaga, L. A., Caplan, A. I., Hering, T. M., Goldberg, V. M., Yoo, J. U., Johnstone, B: BMP-2 induction and TGF- β 1 modulation of rat periosteal cell chondrogenesis. *J Cell Biochem* (in press).

◆ 学会等の講演 ◆

- 李 中原, 鈴木康弘: 培養肺胞Ⅱ型上皮細胞におけるヘパラン硫酸 (HS)-N-硫酸転移酵素 (NST) の発現と制御. 第40回日本呼吸器学会総会 (2000.3.23. 広島)
- 長内和弘, 土原千春, 石垣昌伸, 岡田恒人, 南部静洋, 佐久間勉, 梅 博久, 高橋敬治, 大谷信夫, 鈴木康弘: 新合成サーファクタントプロテイン-B (SP-B) の肺胞Ⅱ型上皮細胞における輸送経路の検討. 第40回日本呼吸器学会総会 (2000.3.22. 広島)
- 李 中原, 鈴木康弘: 培養肺胞Ⅱ型上皮細胞のⅠ型細胞への転換に伴うヘパラン硫酸 (HS)-N-硫酸転移酵素 (NST) の発現. 第89回日本病理学会総会 (2000.4.13. 大阪)
- 小岸久美子, 松下隆寿, 是永龍巳, 細川昌則, 鈴木康弘, 樋口京一: マウス老化アミロイド線維形成修飾因子の解析. 第89回日本病理学会総会 (2000.4.12. 大阪)
- 松下隆寿, 小岸久美子, 細川昌則: 骨髄の脂肪染色について — 四酸化オスミウムを用いて —. 第7回実験病理組織技術研究会総会 (2000.6.9. 大阪)
- 古屋和行, 山本紀子, 栗原美樹子, 市川清之進, 根地嶋宏昌, 花田敬吾, 肥山良之, 森田佳子, 田村 誠: アンドロゲンの骨量増加作用 (Ⅰ) 卵巣摘出骨粗鬆症モデルを用いたエストロゲンとの作用部位及び作用機構の比較検討. 第18回日本骨代謝学会 (2000.7.21. 広島)
- 根地嶋宏昌, 市川清之進, 古屋和行, 栗原美樹子, 山本紀子, 花田敬吾: アンドロゲンの骨量増加作用 (Ⅱ) 不動化精巣摘出ラットに対する効果. 第18回日本骨代謝学会 (2000.7.21. 広島)
- 長内和弘, 土原千春, 鈴木 智, 岡田恒人, 南部静洋, 佐久間勉, 梅 博久, 高橋敬治, 大谷信夫, 鈴木康弘: 肺胞Ⅱ型上皮細胞における新合成サーファクタントプロテイン-B (SP-B) の輸送経路. 第36回日本界面医学会 (2000.10.14. 金沢)
- 鈴木康弘, 李 中原: ラット肺胞Ⅱ型上皮細胞におけるヘパラン硫酸-N-硫酸転移酵素の herbimycin A とリチウムによる発現調節. 第36回日本界面医学会 (2000.10.14. 金沢)
- 平芳一法, 小岸久美子, John T. Lis: GAGA 因子の転写初期過程への関与. 第23回日本分子生物学会年会 (2000.12.13. 神戸)

生体機能調節学分野
Department of Experimental Pathology

【研究概要】

(1) 免疫寛容の基礎的研究

正常な免疫系は、非自己抗原に対して免疫応答を示すが、正常自己構成成分に対しては応答しない。このような免疫自己寛容の基礎的メカニズム、およびその破綻としての自己免疫病の原因・発症機構を研究している。これまでに、制御性T細胞が自己反応性T細胞の制御に重要であり、その機能異常により自己免疫病が発症しうることを示した。現在、制御の分子の基盤を解析している。本年度、制御性T細胞をT細胞クローンとして試験管

内で維持できる条件を見出し、複数のT細胞クローンについてその機能を解析した。それらは、T細胞抗原レセプターおよび副刺激分子CTLA-4を介する刺激を受けると、他のT細胞の活性化・増殖を細胞接触性に強力に抑制すること、一方制御性T細胞自体は刺激に対して増殖反応を示さない、いわゆるアナジの状態にあり、この状態を破ると同時に抑制能も失われること、および、制御活性は抗原提示細胞上での細胞間相互作用により発揮されることを示した。さらに、胸腺における制御性T細胞群の産生機構を解析した結果、胸腺ストローマ細胞上に発現するCD40分子を欠損させれば、T細胞分化・選択機構の変化から制御性T細胞の産生を減少させること、その結果として自己免疫病を惹起できることを示した。また、制御性T細胞による抑制に関与する分子をモノクローナル抗体を作製し解析を進めた結果、我々がDTA-1分子と名づけた分子の架橋により抑制活性が失われること、またDTA-1分子を発現するT細胞群を除去すると激しい自己免疫病が発症することを見出した。現在、DTA-1をコードする遺伝子のクローニングを進めている。

(2) 腫瘍免疫、移植免疫の基礎的研究

癌患者の腫瘍反応性リンパ球が認識する腫瘍抗原の多くは正常自己抗原である。即ち、腫瘍免疫の一部は自己免疫と捉えることができる。制御性T細胞（上述）に特異的なモノクローナル抗体を生体内投与することにより、制御性T細胞（上述）を一定期間除去すれば自家腫瘍に対して有効な免疫応答が誘導できるとの結果を昨年報告した。本年、この腫瘍免疫誘導機構を解析し、制御性T細胞除去によりまずナチュラルキラー細胞が誘導され、続いて腫瘍特異的キラーT細胞が誘導されるとの結果を得た。さらに、制御性T細胞の減少している間に接種された自家腫瘍に対して免疫が成立した。また、制御性T細胞に発現するCTLA-4分子の阻害によっても腫瘍免疫が誘導可能との結果を得た。これらの結果に基づき、免疫自己寛容の操作による新しい腫瘍免疫療法の可能性を検討している。

一方、制御性T細胞の増殖あるいは機能強化を図り、同種異系抗原（アロ抗原）に対する免疫反応を抑制できるか検討した。上述の制御性T細胞を、試験管内でアロ抗原刺激とともに増殖させる条件を決定した。そのようなT細胞群は試験管内でリンパ球混合反応を強力に抑制し、生体投与により移植皮膚片の拒絶を抑制し、長期間の移植片の生着が可能であった。この結果は、免疫自己寛容機構を操作し、移植臓器に対する安定・安全な免疫寛容を誘導できる可能性を意味する。

(3) 新しい動物モデルを用いた慢性関節リウマチ（リウマチ様関節炎）の原因・発症機構の研究

免疫病理学的にヒトのリウマチ様関節炎と酷似する慢性関節炎を自然発症するマウスモデルを確立し、その原因・発症機構を解析している。この関節炎は、正常関節抗原を認識・攻撃するT細胞による自己免疫性関節炎である。その原因は、常染色体劣性遺伝を示す単一遺伝子の異常である。昨年、この原因遺伝子の染色体上での位置を決定し、遺伝子の位置クローニングを進め、候補遺伝子を同定した。遺伝子の構造解析から一塩基突然変異が原因と考えられた。現在、同遺伝子の正常型を発現するトランスジェニックマウスを作製し、関節炎発症を阻止できるか検討している。同時に、ヒトの慢性関節リウマチ患者の一部に同様の遺伝子変異がみられるか検討している。

This department studies: (i) the cellular and molecular basis of immunologic self-tolerance and the etiology of autoimmune disease; (ii) the strategy for eliciting effective immune responses to autologous tumor cells, or inducing immunologic tolerance to organ transplants, by manipulating the mechanism of immunologic self-tolerance; and (iii) the cause and pathogenetic mechanism of rheumatoid arthritis.

One aspect of immunologic self-tolerance (i.e., immunological unresponsiveness of the normal immune

system to normal self-constituents) is maintained by a T cell-mediated dominant control of self-reactive T cells. We showed that elimination of a T-cell subpopulation expressing CD25, which constitutes 5–10% of the peripheral CD4⁺ T cells and less than 1% of CD8⁺ T cells in normal individuals, elicits various autoimmune diseases immunopathologically similar to human counterparts (e.g., insulin-dependent diabetes mellitus, autoimmune thyroiditis, and autoimmune gastritis with pernicious anemia). Recent functional characterization of this immunoregulatory CD25⁺4⁺ T-cell population revealed that it potently suppressed the activation/proliferation of other T cells in a cell to cell contact manner on antigen-presenting cells when the population was stimulated through the T-cell antigen receptor and CTLA-4, a co-stimulatory molecule, although the CD25⁺4⁺ T cells themselves were anergic (i.e., non-proliferative) to the stimulation. Furthermore, breakage of the anergic state of the population simultaneously led to the abrogation of the suppression and, as a consequence, the development of autoimmune disease. The molecular basis of this suppressive activity and the anergic state is currently under investigation.

As an extension of this study, we then investigated whether manipulation of the CD25⁺4⁺ T-cell population can break immunological unresponsiveness to autologous tumor cells and evoke effective immune responses to them. Removal of the population for a limited period indeed led to the rejection of tumor cells in vivo. Furthermore, the removal elicited in vitro the spontaneous development of potent natural killer cells capable of killing a broad spectrum of syngeneic or allogeneic tumor cells. This novel way of evoking tumor immunity in vivo and in vitro would help to devise effective immunotherapy for cancer in humans.

We are also investigating the cause and pathogenetic mechanism of rheumatoid arthritis (RA) by analyzing a mouse model newly established in our department. We showed that the arthritis in this model was autoimmune and mediated by CD4⁺ self-reactive T cells, and that the cause of arthritis was an autosomal recessive abnormality of a single gene. We have recently identified the responsible gene and its structural abnormality. Our ultimate goal is to determine how the genetic abnormality leads to the activation of arthritogenic T cells and to know how this arthritogenic process can be immunologically intervened in RA in humans.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Sakaguchi, S., Takahashi, T., Yamazaki, S., Kuniyasu, Y., Itoh, M., Sakaguchi, N., and Shimizu, J.: Immunologic self-tolerance maintained by T cell-mediated control of self-reactive T cells: implications for autoimmunity and tumor immunity. *Microbes and Immunity*. (In press)
- Sakaguchi, S.: Regulation of immune responses. In *Clinical Immunology*. 2nd ed. R. R. Rich, T. A. Fleisher, W. T. Shearer, H. W. Schraeder, Jr., and B. L. Kotzin (Eds). Harcourt International. (In press)
- Kumanogoh, A., Wang, X., Lee, I., Watanabe, C., Shi, W., Yoshida, K., Habu, S., Itoh, M., Sakaguchi, N.,

- Sakaguchi, S., and Kikutani, H.: Autoimmunity and immunodeficiency: increased T-cell autoreactivity in the absence of CD40-CD40 ligand interactions. *J. Immunol.* (In press)
- Sakaguchi, S.: Animal models of autoimmunity; their relevance to human diseases. *Current Opinion in Immunology*. 12: 684-690, 2000.
- Kuniyasu, Y., Takahashi, T., Itoh, M., Shimizu, J., Toda, G., and Sakaguchi, S.: Naturally anergic and suppressive CD25⁺ CD4⁺ T cells as a functionally and phenotypically distinct immunoregulatory T-cell subpopulation. *Int. Immunol.* 12: 1145-1155, 2000.
- Sakaguchi, S.: Regulatory T cells: key controllers of immunologic self-tolerance. *Cell*. 101: 455-458, 2000.
- Takahashi, T., Tagami, T., Yamazaki, S., Uede, T., Shimizu, J., Sakaguchi, N., Mak, T. W., and Sakaguchi, S.: Dominant immunologic self-tolerance maintained by CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells constitutively expressing CTLA-4. *J. Exp. Med.* 192: 303-309, 2000.
- Sakaguchi, S., and Sakaguchi, N.: Role of genetic factors in organ-specific autoimmune diseases induced by manipulating the thymus/T cells, and not self-antigens. *Rev. Immunogenetics*. 2: 147-153, 2000.
- Sakaguchi, S., Takahashi, T., and Shimizu, J.: Breaking immunologic tolerance to tumor cells as a novel immunotherapy for cancer. In Cell Therapy. Y. Ikeda, J. Hata, S. Koyasu, Y. Kawakami, Y. Hattori (Eds). Springer-Verlag, Tokyo, P3-13, 2000.

2) 総説

- 坂口志文：動物モデルからみた膠原病・リウマチ性疾患. 内科 86(2)：225-231 (2000).
- 坂口志文：CD25⁺ CD4⁺ 制御性T細胞——自己免疫との関連——. 感染・炎症・免疫 30(4)：20-26 (2000).
- 坂口教子, 坂口志文：自然発症モデルとRA. Modern Physician 20(1): 12-18 (2000).
- 坂口志文：免疫制御機構の新しい理解へ (巻頭言). Molecular Medicine 37(8): 868-869 (2000).
- 高橋武司, 坂口志文：T細胞性制御の異常としての自己免疫疾患. Molecular Medicine 37(8): 914-923 (2000).
- 高橋武司, 坂口志文：T細胞による自己寛容の制御. 炎症と免疫 8(3)：223-231 (2000).
- 坂口志文：自己免疫としてのA型胃炎. G. I. Research (印刷中)
- 坂口志文：関節炎モデルマウス. 臨床リウマチ (印刷中)

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

- 清水 淳, 山崎小百合, 高橋武司, 坂口志文：CD25⁺4⁺T細胞による免疫制御の分子機構. 第10回 Kyoto T Cell Conference (2000.6.16.-17 京都)
- 山崎小百合, 清水 淳, 西岡 清, 坂口志文：CD25 陽性T細胞の操作による腫瘍免疫の誘導. 第10回 Kyoto T Cell Conference (2000.6.16.-17 京都)
- 山崎小百合, 清水 淳, 西岡 清, 坂口志文：CD25 陽性T細胞の操作による腫瘍免疫の誘導. 第59回日本癌学会総会 (2000.10.4.-6 横浜)
- 清水 淳, 山崎小百合, 高橋武司, 坂口志文：CD25⁺4⁺T細胞による免疫制御の分子機構. 第30回日本免疫学会 (2000.11.14-16 仙台)

山崎小百合, 清水 淳, 西岡 清, 坂口志文: 制御性 CD25⁺ CD4⁺ T細胞の操作による腫瘍免疫の誘導. 第30回日本免疫学会 (2000.11.14-16 仙台)

丸山 聡, 饗場祐一, 樋口哲也, 坂口教子, 坂口志文, 鏑田武志: SKG マウスの RA 様関節炎における B 細胞の関与. 第30回日本免疫学会 (2000.11.14-16 仙台)

2) 講演・シンポジウム

Shimon Sakaguchi: Dominant immunologic tolerance maintained by CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells constitutively expressing CTLA-4. ThymOz III (2000.4.11-18 Heron Island, Queensland)

Shimon Sakaguchi: Thymic and T-cell dependency of spontaneous rheumatoid arthritis-like disease in mice. 第44回日本リウマチ学会総会国際シンポジウム (2000.5.13 横浜).

Shimon Sakaguchi: Thymic and T-cell dependency of spontaneous rheumatoid arthritis-like disease in mice. 第30回日本免疫学会学術集会シンポジウム (2000.11.14-16 仙台).

Shimon Sakaguchi: T cell-mediated control of self-reactive T cells. Gulbenkian Symposium of Immunologic Tolerance (2000.11.2-5 Lisbon)

Shimon Sakaguchi: Genetic basis of RA-like autoimmune arthritis in SKG mouse. The 13th Naito Conference on Molecular Biological Approaches for Intractable Diseases [II] (2000.11.8-11 湘南).

坂口志文: SKG マウス, 関節炎モデル研究会 (2000.3.11 千里).

坂口志文: 自己免疫と腫瘍免疫, その共通基盤について. 滋賀血液・免疫研究会 (2000.5.27 大津).

坂口教子: リウマチ様関節炎を自然発症する SKG マウスについて. 和漢医薬学会大会シンポジウム (2000.9.2 名古屋).

坂口志文: 動物モデルを用いた RA の原因, 発症機構へのアプローチ (教育講演). 日本臨床免疫学会 (2000.9.28 東京).

坂口志文: 自己免疫, 腫瘍免疫, 移植免疫に共通の免疫寛容機構. 東北大学大学院セミナー (2000.12.12 仙台).

坂口志文: 慢性関節リウマチの原因・発症機構. 山梨医大大学院セミナー (2000.12.13 甲府).

シミュレーション医工学分野 Department of Medical Engineering

【研究概要】

本研究室では, 研究生体組織と力学的に調和する生体材料や人工臓器の開発など生体機能の再生を目的とした診断・治療の支援を行うために, コンピュータ科学や材料工学の手法を用いて, 以下のような基礎的ならびに応用的研究を行っている。

1. 生体組織の力学的適応変形に関するシミュレーション

生体組織の力学的特性の解明を基本として, 特に骨のモデリングならびにリモデリング現象など生体組織の力学的合理性の適応変形過程などについて数値シミュレーションを行っている。その結果, 等応力分布あるいは等

歪エネルギー密度分布などの制約関数に従って、各種骨組織の形態が形成されていることが示唆され、この制約の下に、生体組織と力学的に調和する人工歯根のデザインの創生を試みている。

(工業技術院名古屋工業技術研究所との共同研究)

2. 人工歯根周囲における歯根膜の再生

現在の人工歯根は、天然歯根のように歯根膜を持たず、直接顎骨に固定させるので、咀嚼時の動的荷重が緩衝されず顎骨に伝わる。その結果、歯槽骨に過大な応力が発生して骨吸収が起こり、ゆるみが生じる危険性が高い。そこで、チタン製人工歯根をポリマーで被覆し、表面処理により細胞接着性タンパク質であるコラーゲンを固定化し、さらにその上に歯根膜細胞を培養し、歯根膜の再生を図っている。

3. MR Elastography (MRE) による in vivo 弾性率データの計測、解析および検証

磁気共鳴弾性率計測法 (MRE) は、MRI をベースとする新たな測定技術であり、これによる体内組織・器官の非侵襲性弾性率計測の手法を確立し、医療研究支援用の生体組織データベースを構築する。また触感デバイスを用いた人工現実感 (VR) による VR モデルシステムを開発している。

(科学技術庁 Sensible Human Project：医学研究科医療情報部との共同研究)

4. パラレルメカニズム咀嚼ロボット

歯科や外科領域での診断や手術では、人体構造の静的な位置情報だけでなく、動的な運動情報が予後を左右する。運動情報をコンピュータに取り込むためにパラレルメカニズムを採用したの多関節アームを開発してきたが、さらに駆動系を組み込んだパラレルロボットを開発し、個々の患者の口腔内模型を咀嚼中に計測した顎運動情報に基づいて運動させるシステムを開発した。

(文部省科学研究費補助金)

5. 歯冠修復用高強度・高靱性ガラスセラミック材料と加圧成型システムの開発

優れた生体適合性と従来の歯科用ポーセレンよりも 3～4 倍高い曲げ強度と破壊靱性値をもつ Diopside 系ガラスセラミック材料を開発し、900度付近で加熱・加圧成型・結晶化するシステムなど加工性と審美性をも備えた新しい歯冠修復用材料を研究してきており、臨床試験の最中である。

(文部省科学研究費補助金)

6. 新しい生体材料としてのマグネシウム合金の開発

生体必須のミネラルであり、比強度がもっとも高い金属の一つであるマグネシウムは、体液中でアパタイトの沈着が速やかであり、新生骨との結合と転化に優れた特性を有することを見出しており、生体材料とくに人工骨用材料としての応用を目指している。

(新エネルギー・産業技術総合開発機構助成金)

7. 人工関節軟骨・人工椎間板などの医療用ハイドロゲル

関節軟骨が持つ優れた力学的特性を具備した人工関節軟骨材を開発することにより、関節の病変部のみを置換し健全な軟骨下骨梁を残す新しい人工関節軟骨の開発を目指している。当研究室にて新しく開発した高強度・高弾性率ポリビニルアルコールハイドロゲルは人工関節軟骨・椎間板材料として有望である。

8. 耐摩擦・摩耗特性に優れた人工関節用ポリエチレン

人工関節の摺動部に使用される超高分子量ポリエチレンの摩耗粉により発生する不良肉芽組織が骨吸収を惹起する異物反応が問題となっている。そこで、物理的な改良法により最終成形物に分子配向と結晶面配向を導入することにより、耐摩耗性の改良を試み、良好な結果が得られている。

9. 生体組織と材料の衝撃吸収特性など力学的物性の測定ならびに解析

衝撃解析シミュレーションや生体を模した頸部モデルによる追突実験から、鞭打ち損傷の発生メカニズムを解明し、安全で快適な自動車シートの開発を試みている。

(運輸省 Advanced Safety Vehicle Project)

10. ポリフェノールによる細胞増殖制御と生体組織の長期間保存

緑茶ポリフェノールが種々の動物細胞の増殖を制御でき、細胞に対する無毒性の睡眠剤であることを見いだした。また、冬眠覚醒後ほぼ100%の細胞が増殖を再開することを明らかにした。更に、ラットの腓島や大動脈が体温で数ヶ月間も保存でき、他のラットへの移植後に正常に数ヶ月間生存することも確認した。現在、ポリフェノールを用いた他の組織、例えば、ブタ膝関節軟骨、モルモット歯根膜、及び家兎角膜等に対する長期間保存の検討も行っており、良好な結果が得られている。

11. 骨格筋収縮エネルギーを利用した人工心臓駆動システム（筋肉の力学モデルの構築）

患者自身の筋肉を駆動力に用いる「骨格筋ポンプ」と呼ばれる新しいデバイスの開発を目的としている。広背筋と胸膜の間にバルーンを挟み込み、広背筋に電気刺激を与えて収縮させ、その収縮力を人工心臓の駆動力として有効に利用する。

（医学研究科心臓血管外科学講座との共同研究）

12. 生体形態計測システムと手術シミュレーション（顎変形症治療計画支援システム）

顎変形症手術に際しては、患者と術者とが術式の定量的検討と術後の咬合機能と顔貌の改善予測情報を確認して（informed consent）、望むことが極めて重要である。3次元画像を多用した、治療計画支援のためのシステムを開発している。

（医学研究科口腔外科学講座との共同研究）

1. Simulation of Biomechanical Adaptation Process of the Living Tissues.

Numerical simulations are carried out especially on the modeling and remodeling phenomena of the bones as the biomechanical adaptation. With constraint functions such as stress distribution or strain energy density distribution, it is indicated that the form of the bone has been modeled, and the design of artificial dental roots which dynamically harmonizes with the living tissue under this constraint has been tried. (Joint research with the National Industrial Research Institute of Nagoya)

2. Regeneration of the periodontal Membrane around Dental Implant Roots.

The present artificial dental root is fixed directly in the alveolar bone without having periodontal ligament like natural tooth root, the stresses are directly transmitted without any damping effect. The excessive stresses in the alveolar bone may arise and cause the bone resorption by which the loosening of the implants occurs. Therefore, we have been attempting that the dental implant made of titanium is covered with a polymer, and the collagen which is the cell adhesive protein is fixed by some surface treatments, and in addition, the periodontal ligament cell is cultivated on the surface for regeneration of the periodontal membrane.

3. MR Elastography Measurement, Analysis and Verification.

Magnetic resonance elastic modulus measurement method (MRE) of the elastic modulus is a new measuring technique based on the MRI, and it establishes the technique of the noninvasive elastic modulus measurement of the living tissue and organ in vivo. Database construction for the medical research support, and virtual reality (VR) system using the haptic device are investigated. (Sensible Human Project sponsored by the Science and Technology Agency: Joint Research with Medical Information Division, Kyoto University)

4. Kinematic Analysis of a mastication Robot employing the 6-degree-of-freedom parallel mechanism

Dynamic behaviors of the human body affect the diagnosis or the prognosis of operations in dental and surgery fields. In our laboratory, mastication robot is developed in order to represent the human mandibular dynamics; i.e. not only kinematics but also pressure acting between jaws. The robot employs the 6-degree-of-

freedom parallel mechanism in order to decrease the positional information errors. (Supported by Ministry of Culture, Science and Education)

5. Development of glass ceramics with high strength and toughness and pressure forming systems for restorative crown materials

Diopside glass ceramics is known as biocompatibility. Moreover, we have been developing the ceramics to have 3 and 4-fold higher the strength and toughness than the used dental porcelains. The crystallization system with heating and pressure molding is developed and now is running a clinical trial. (Supported by Ministry of Culture, Science and Education)

6. Development of magnesium alloys as biomaterials.

Magnesium offers several advantages such as low density, high specific strength to weight ratio, good castability, non-toxic. Moreover, magnesium is an essential element in human body. The present study is carried out to evaluate magnesium in medical and dental applications and to examine its corrosion behavior. (Supported by New Energy and Industrial Technology Development Organization)

7. New Artificial Articular Cartilage and Intervertebral Disk.

Development of the artificial cartilage and intervertebral disk is necessary in order to recover support and mobility simultaneously in joints and spine which received the damage. We examined the possibility of the application of polyvinyl alcohol hydrogel which can control the mechanical strength by the change of water content and is excellent in the biocompatibility. It replaces only lesion part and leaves the sound subchondral bone. The high strength and high elastic modulus of the polyvinyl alcohol hydrogel newly developed in this department is promising as artificial articular cartilage and intervertebral disk material.

8. Polyethylene for Artificial Joints with High Wear Resistance.

The wear particles of polyethylene are produced by the friction between the metal and UHMWPE when artificial joint used for the long term. It is known that the osteolysis occurs by foreign body granulation tissue which the wear particle induces. The development of new UHMWPE for artificial joint which controlled super structure by the crystallization under molecular orientation is being tried in order to improve abrasion resistance of UHMWPE.

9. Measurement and Analysis of Impact Energy Absorption of the Living Tissues and Biomaterials.

By computer simulations and experiments with anatomical cervical model in rear-end collision, the generation mechanism of the whiplash injuries is clarified, and the development of the safe automobile seat is being tried. (Advanced Safety Vehicle Project sponsored by the Ministry of Transportation)

10. Proliferation Control of Mammalian Cells and Tissue Preservation for Long Term.

Ordinary method of cell and tissue storage is employed preserving method by freezing at extra low temperature of -196°C and original cell is gotten by rapid thawing of frozen cell as needs arises. However, the survival ratios of cells after thawing and fusion is low, depending on a kind of cells and examiner's skill, while those of normal and useful cells such as Langerhans islets and liver cells except cancer cell is about 10 to 30%. We are investigating a novel preservation method, which can control the proliferation of various types of cells, and the long-term preservation of various tissue or organs at the physiological temperature using polyphenol as a preservation agent.

11. Mechanical Analysis of the isometric Contraction of the Skeletal Muscles for an Artificial Heart Support. (Construction of Dynamic Model of the Muscle)

Our development of a new device called "skeletal muscle pump" which uses the Latissimus Dorsi muscle for artificial heart drive system using the skeletal muscle contraction has been investigated. A balloon is inserted between the muscle and pleura, and an electric stimulation is given in the muscle to contract, and the shrinkage force is effectively utilized as driving force of the artificial heart. (Joint Research with Department of Cardiovascular Surgery, Kyoto University)

12. Morphometry System and Operation Simulation (Therapeutic Planning Support System for Jaw Deformities)

In the jaw deformation disease operation, patients and surgeons would like to confirm quantitative evaluation of operative method and improvement of postoperative occlusal function and feature (informed consent). The system for the therapeutic planning support which uses the three-dimensional images abundantly has been developed. (Joint Research with Department of the Oral Surgery, Kyoto Univ.)

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Peng, C., Tsutsumi, S., Mohammed-AlTahawi, HM.: Serum Concentrations of Cytokines IL-2, IL-2R and T NF- α in Recurrent Aphthous Ulceration Patients, Egyptian Dental Journal, 46(1): 167-172, 2000.
- Nonami, T., Tsutsumi, S.: Press-Formable CaO-MgO-SiO₂-TiO₂-Ag₂O Glass as a Biomaterial, Journal of Biomedical Materials Research, 50: 8-15, 2000.
- Peng, C., Tsutsumi, S., Mohammed-AlTahawi, HM.: Natural Killer-Cell Activity and T Lymphocyte Subsets in Recurrent Aphthous Ulceration Patients, Cairo Dental Journal, 16(1): 15-18, 2000.
- Suh, H., Hwang, Y.-S., Kang, Y.-B., Nakai, R., Tsutsumi, S., Park J.-C.: Compliance of Surface Modified Polyurethane Tubular Scaffold for Artificial Esophagus, Biomaterials Research, 4(1): 8-12, 2000.
- Matsumura, K., Hyon, S.-H., Nakajima, N., Peng, C, Tsutsumi, S.: Surface Modification of Poly(ethylene-co-vinyl alcohol) (EVA). Part I. Introduction of Carboxyl Groups and Immobilization of Collagen, Journal of Biomedical Materials Research, 50(4): 512-517, 2000.
- Fukuda, Y., Takai, S., Yoshino, N., Murase, K., Tsutsumi, S., Ikeuchi, K., Hirasawa, Y.: Impact Load Transmission of the Knee-Influence of Leg Alignment and the Role of Meniscus and Articular Cartilage, Clinical Biomechanics, 15(7): 516-521, 2000.
- 松村和明, 玄 丞然, 中島直喜, 彭 春岩, 岩田博夫, 堤 定美: 歯根膜を有する人工歯根の開発 第1報 エチレン-ビニルアルコール共重合体のチタンへの接着と表面処理, 歯科材料・器械, 19(4): 361-366, 2000.
- 彭 春岩, 堤 定美, 松村和明, 中島直喜, 玄 丞然: 歯根膜を有する人工歯根の開発 第2報 コラーゲン固定化エチレン-ビニルアルコール共重合体 (EVA) へのヒト歯根膜由来細胞培養, 歯科材料・器械, 19(5): 464-469, 2000.

- Kuwahara, H., Al-Abdullat, Y., Ohta, M., Tsutsumi, S., Ikeuchi, K., Mazaki, N., Aizawa, T.,: Surface Reaction of magnesium in Hanl's Solutions, Materials Science Forum, 350-351: 349-358, 2000.
- 菅 幹生, 大城 理, 湊小太郎, 松田哲也, 太田 信, 堤 定美, 高橋 隆, 岡本 淳, 滝沢 修: MR Elastography 法を用いた局所弾性率の計測と評価, MEDICAL IMAGING TECHNOLOGY, 18(4): 385-386, 2000.
- 太田 信, 津田裕子, 東 高志, 南部敏之, 玄 丞然, 堤 定美, 今井麻紀, 小森 優, 松田哲也, 高橋 隆, 菅 幹生, 湊小太郎: 生体軟組織の弾性率測定用標準物質としての PVA ゲルの開発と測定, MEDICAL IMAGING TECHNOLOGY, 18(4): 393-394, 2000.
- 箕浦哲嗣, 坂井信幸, 永田 泉, 太田 信, 津田裕子, 堤 定美: 低周波共振法による生体軟組織の粘弾性測定, MEDICAL IMAGING TECHNOLOGY, 18(4): 395-396, 2000.
- 福田幸久, 高井信朗, 平澤泰介, 吉野信幸, 池内 健, 吉田宏昭, 堤 定美, 村瀬晃平: 膝関節の衝撃伝達機構に関する力学的研究(第2報) 2次元有限要素法を用いて, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21: 205-210, 2000.
- 真多俊英, 赤木将男, 中村孝志, 箕浦哲嗣, 吉田宏昭, 堤 定美: 人工膝関節上腕骨コンポーネント周囲の応力解析〔第2報〕—上腕骨及び尺骨コンポーネント連結の有限要素モデル—, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21: 267-270, 2000.
- 細川元男, 金 郁吉, 福田幸久, 高井信朗, 吉野信之, 堤 定美: 有限要素法を用いたペテルス病の骨頭応力の解析, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21: 287-291, 2000.
- 村瀬晃平, 奥本泰久, 堤 定美: 多方向断面積層による三次元 FEM モデルの形状精度向上化に関する研究, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21: 293-297, 2000.
- 太田 信, 玄 丞然, 姜 有峯, 岡 正典, 堤 定美, 田邊裕貴, 三好良夫: 圧縮配向結晶化による超高分子量ポリエチレン結晶の残留応力測定, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21: 319-322, 2000.
- 東 高志, 南部敏之, 土肥健二, 太田 信, 堤 定美, 井上博志, 林 浩二, 伊藤 仁, 真多俊博, 久津木学: 超高速 MRI を用いた顎運動計測, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21: 489-495, 2000.
- Mizunuma, M., Yanai, A., Tsutsumi, S., Yoshida, H., Seno, H., Inoue, M., Nishida, M.: Can dog-ear formation be decreased when an S-shaped skin resection is used instead of a spindle skin resection? — A three-dimensional analysis of skin surgery techniques using the finite element method —, Plastic and Reconstructive Surgery, 106(4): 845-848, 2000.
- Yoshida, H., Tsutsumi, S.: Experimental and Numerical Analyses of Whiplash Motions in Low — Speed Rear — End Collisions, Russian Journal of Biomechanics, 4(3): 24-32, 2000.
- 菅 幹生, 湊小太郎, 松田哲也, 大城 理, 千原國宏, 太田 信, 堤 定美, 小森 優, 高橋 隆, 岡本 淳, 滝沢 修: 局所生体弾性率の MR Elastography 法を用いた計測と評価, Medical Imaging Technology, 18(6): 769-776, 2000.
- 太田 信, 玄 丞然, 姜 有峯, 岡 正典, 堤 定美, 村上昌三, 麴谷信三: 圧縮配向結晶化超高分子量ポリエチレンの耐摩耗性と力学的性質, 材料, 49(12): 1301-1305, 2000.
- N. Kunou, Y. Ogura, Y. Honda, S-H. Hyon: Biodegradable scleral implant for controlled intraocular delivery of betamethasone phosphate. J. Control Release 51: 635-641, 2000.
- 牛尾一康, 中村孝志, 岡 正典, 玄 丞然, 由良茂人, 速水 尚, 浦川隆史: 犬大腿骨頭部分的表面置換術に於け

- る stress shielding. 日本臨床バイオメカニクス学会誌21: 333-336, 2000.
- 森川将名, 坂口一彦, 岡 正典, 玄 丞然, 速水 尚, 牛尾一康, 中村孝志: PVA-H の力学的特性に関する研究. 日本臨床バイオメカニクス学会誌21: 337-342, 2000.
- 孕石佳久, 坂口一彦, 岡 正典, 由良茂人, 玄 丞然, 中村孝志: 犬用人口椎間板の力学的特性評価 (第2報). 日本臨床バイオメカニクス学会誌21: 57-62, 2000.
- 久田祥博, 速水 尚, 児島忠倫, 岡 正典, 由良茂人, 玄 丞然, 中村孝志: 人口椎間板の疲労強度特性. 日本臨床バイオメカニクス学会誌21: 63-68, 2000.
- M. Oka, K. Ushio, P. Kumar, K. Ikeuti, S-H. Hyon, J. Nakamura, H. Fujita: Development of artificial articular cartilage. J. Engineering in Medicine 214: 59-68, 2000.
- J.-C. Park, Y.-S. Hwang, J.-E. Lee, K. D. Park, K. Matsumura, S.-H. Hyon, H. Suh: Type I atelocollagen grafting onto ozone-treated polyurethane films: cell attachment, and collagen synthesis. J. Biomed. Mater. Res. 52: 669-677, 2000.
- S.-H. Hyon, O.-J. Kim: The rat pancreatic islets hibernate under physiological conditions. J. Biotechnology (in press).
- Yoshida, H., Tsutsumi, S., Mizunuma, M., Yanai, A.: Three dimensional finite element analysis of skin suture. Part 1: spindle model and S-shaped modified model, Mechanical Engineering & Physics, 22: 481-485, 2000.
- 箕浦哲嗣, 坂井信幸, 永田 泉, 堤 定美, 太田 信, 津田裕子, 坂東利明: 低周波共振法による生体軟組織の粘性弾性測定. 第44回日本学術会議材料研究連合講演会講演論文集, 283-284, 2000.

2) 著書

- 堤 定美: インプラントの生体力学, 先端医療シリーズ: 歯科医学1. 歯科インプラントの最先端, 末次恒夫, 松本直之 (監修), 先端医療技術研究所 (東京): 95-103, 2000.
- 玄 丞然: 最新先端接合技術. 宮入裕夫編, NGT, 2000.

3) 総説

- 堤 定美: 歯科修復物とCAD/CAM: コンピュータの果たす役割, Life Support and Anesthesia, 7(8): 805-807, 2000.
- 前田芳信, 十河基文, 石井和雄, 村本睦司, 堤 定美: 有床義歯へのCAD/CAMの応用, QDT, 25(11): 50-55, 2000.
- 堤 定美, 玄 丞然, 彭 春岩, 中島直喜, 松村和明, 井汲憲治: 特別企画: 人工歯根はどこまで天然歯根に近づけるか? — 人工歯根周囲の歯根膜再生 —, Quintessence Implantology 7(6): 13-22, 2000.
- 玄 丞然: 生体吸収材料による組織再生. BOUNDARY 16: 13-19, 2000.
- 玄 丞然: 耐摩耗性に優れた人工関節摺動部材の開発 (その1). 高分子加工49: 386-392, 2000.
- 玄 丞然: 耐摩耗性に優れた人工関節摺動部材の開発 (その2). 高分子加工49: 449-458, 2000.
- 喜多敏夫, 玄 丞然: 機械的特性に優れた人口関節ポリエチレン. 工業材料48: 103-106, 2000.

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

- M. Suga, T. Matsuda, J. Okamoto, K. Minato, S. Tsutsumi, T. Takabayashi: Sensible Human Projects: Haptic Modeling and Surgical Simulations Based on Measurements of Practical with MR Elastography-Measurement of Elastic Modulus The 8th Annual Medicine Meets Virtual Reality 2000.1.27-29, Newport Beach, USA
- 堤 定美, 玄 丞然, 南部敏之, 高橋 隆, 松田哲也, 小森 優, 湊小太郎, 管 幹生: Sensible Human Project における MR Elastography (MRE) による in vivo 弾性率測定医工学フォーラム — 1999年度特別学術講演会 — (2000.2.16, 京都)
- 太田 信, 姜 有峯, 玄 丞然, 岡 正典, 堤 定美: 人口関節用 UHMWPE の配向結晶化による耐摩耗性の向上. 第20回バイオトライボロジシンポジウム (2000.3.11, 京都)
- C. Peng, K. Matsumura, N. Nakajima, S.-H. Hyon, S. Tsutsumi: PDL Cell Culture onto Collagen Immobilized on Ethylene-co-Vinyl Alcohol Films 78th General Session of the IADR (2000.4.5-8, Washington, DC)
- M. Sekino, S. Tsutsumi, T. Urabe, M. Fukuma, H. Minaki: New Development of DIOPSIDE Glass-Ceramics for Dental Restractive Application 78th General Session of the IADR (2000.4.5-8, Washington, DC)
- M. Kutsuki, Y. Yamaguchi, K. Yoshitake: 3-D Stress Distribution in Temporomandibular joint during Clenching 78th General Session of the IADR (2000.4.5-8, Washington, DC)
- Y. Al. Abdullat, H. Kuwahara, C. Peng, S. Tsutsumi: Possibilities of Magnesium as a New Dental Biomaterial 78th General Session of the IADR (2000.4.5-8, Washington, DC)
- 松村和明, 中島直喜, 彭 春岩, 玄 丞然: 歯根膜を有する人工歯根の開発研究〔Ⅲ〕チタンと EVA の接着. 第35回日本歯科理工学会 (2000.4.27-28, 東京)
- 彭 春岩, 松村和明, 中島直喜, 玄 丞然, 堤 定美: 歯根膜を有する人工歯根の開発研究〔Ⅳ〕人工歯根周囲への歯根膜細胞の3D培養. 第35回日本歯科理工学会 (2000.4.27-28, 東京)
- 平 雅之, 中尾裕之, 松本卓也, 北原一慶, 高橋純造, 瀧 智弘, 岡崎正之, 玄 丞然, 堤 定美: 生体組織工学に関する研究 (第2報) ラット骨髄由来細胞の急速培養と人工足場材料内での3次元培養・骨系分化の試み. 第35回日本歯科理工学会 (2000.4.27-28, 東京)
- Y. Al. Abdullat, H. Kuwahara, S. Tsutsumi: Magnesium and Its Alloys as New Dental Biomaterials. 第35回日本歯科理工学会 (2000.4.27-28, 東京)
- 玄 丞然, 堤 定美: 射出成形用 PMMA 義歯床の開発第35回日本歯科理工学会 (2000.4.27-28, 東京)
- D.-H. Kim, W. Cui, K. Inoue, S.-H. Hyon: Isolation of endothelial cell from rat aorta by easy explant method. 第8回細胞療法研究会 (2000.4.27-28, 京都)
- W. Cui, D.-H. Kim, M. Imamura, S.-H. Hyon, K. Inoue: Culture of rat islets in the chitosan sponge for cutaneous islet transplantation. 第8回細胞療法研究会 (2000.4.27-28, 京都)
- M. Oka, S. Yura, S.-C. Cui, T. Nakamura, S.-H. Hyon, J. J. Li: Development of artificial intervertebral disc using improved polyvinyl alcohol hydrogels. SIROT/CSOS 2000 CHINA (2000.5.5-10 China)
- C. Peng, S. Tsutsumi, K. Matsumura, N. Nakajima, S.-H. Hyon: PDL Cell Culture onto Collagen Immobilized

- on Ethylene-Vinyl Alcohol Films Sixth World Biomaterials Congress (2000.5.15-20, Kamuela, Hawaii)
- M. Ohta, S-H. Hyon, Yu-B. Kang, S. Tsutsumi, M. Oka: Wear Resistance and Mechanical Properties of a Lightly Cross-linked UHMWPE Crystallized under Uniaxial Compression Sixth World Biomaterials Congress(2000.5.15-20, Kamuela, Hawaii)
- S-H. Hyon, M. Ohta, Yu-B. Kang, S. Tsutsumi, M. Oka: Structure and Properties of UHMWPE 3-D Compressed for Artificial Acetabular Cup. Sixth World Biomaterials Congress (2000.5.15-20, Kamuela, Hawaii)
- K. Ushio, M. Oka, S-H. Hyon, H. Fujita, S. Yura, T. Toguchida, T. Nakamura: Synthetic osteochondral composite materials for aseptic necrosis of the femoral head. Sixth World Biomaterials Congress (2000.5.15-20, Kamuela, Hawaii)
- M. Oka, S-H. Hyon, K. Ushio, T. Nakamura, S. Ura: Attachment of soft joint material to underlying bone. Sixth World Biomaterials Congress (2000.5.15-20, Kamuela, Hawaii)
- O. Ike, S-H. Hyon, Y. Shimizu: Local chemotherapy using bioresorbable anticancer-drug-releasing microspheres. Sixth World Biomaterials Congress (2000.5.15-20, Kamuela, Hawaii)
- S. Yura, M. Oka, S-H. Hyon, S.C. Cui, P. Kumar, K. Ushio, T. Nakamura: Development of artificial intervertebral disc using improved polyvinyl alcohol hydrogels. Sixth World Biomaterials Congress (2000.5.15-20, Kamuela, Hawaii)
- 松村和明, 中島直喜, 玄 丞然, 彭 春岩, 堤 定美, 岩田博夫: 歯根膜を有する人工歯根の開発 — EVA とチタンとの接着. 第49回高分子年次大会 (2000.5.29-31, 名古屋)
- 姜 有峯, 太田 信, 玄 丞然, 堤 定美: 超高分子ポリエチレンの酸化劣化による分子運動の変化. 第49回高分子年次大会 (2000.5.29-31, 名古屋)
- 太田 信, 姜 有峯, 玄 丞然, 堤 定美, 村上昌三, 麴谷信三: 人工関節用超高分子量ポリエチレンの配向結晶化による耐摩耗性の向上. 第49回高分子年次大会 (2000.5.29-31, 名古屋)
- 松村和明, 玄 丞然, 中島直喜, 堤 定美, 岡 正典, 岩田博夫: PVA 濃厚溶液のゲル化とその特性. 第49回高分子年次大会 (2000.5.29-31, 名古屋)
- 金 度勲, 崔 万興, 井上一知, 玄 丞然: ラット腹腔大動脈の体温での長期保存とその同種移植. 第3回日本組織工学会 (2000.6.30-7.1, 広島)
- 玄 丞然, 金 度勲, 崔 万興, 井上一知: キトサンスポンジを用いた毛細血管再生の試み. 繊維学会 (2000.6.7-9, 京都)
- 玄 丞然, 太田 信, 姜 有峯, 堤 定美: 人工関節用超高分子量ポリエチレンの配向結晶化による耐摩耗性の向上. ポパール会 (2000.7.1, 京都)
- S-H. Hyon, D. Kim: Degradation behavior of PGLA microspheres with different size. The 27th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials (2000.7.7-13 Paris)
- 玄 丞然, 松村和明, 中島直喜, 彭 春岩, 堤 定美: 歯根膜を有する人工歯根の開発. 第29回医用高分子シンポジウム (2000.7.24-25, 東京)
- 中尾浩之, 平 雅之, 松本卓也, 高橋純造, 玄 丞然, 堤 定美: 生体組織工学に関する研究 (第3報) 多孔質乳酸-e-カプロラクトン共重合体の諸性質. 第36回日本歯科理工学会 (2000.7, 岡山)
- 管 幹生, 大城 理, 湊小太郎, 松田哲也, 太田 信, 堤 定美, 高橋 隆, 岡本 淳, 滝沢 修: MR

- Elastography 法を用いた局所弾性率の計測と評価. 第19回日本医用画像工学会 (2000.8.3-5, 大阪)
- 太田 信, 津田裕子, 東 高志, 南部敏之, 玄 丞然, 堤 定美, 今井麻紀, 小森 優, 松田哲也, 高橋 隆: 生体軟組織の弾性率測定用標準物質としての PVA ゲルの開発と測定. 第19回日本医用画像工学会 (2000.8.3-5, 大阪)
- 箕浦哲嗣, 坂井信幸, 永田 泉, 太田 信, 津田裕子, 堤 定美: 低周波共振法による生体軟組織の粘弾性測定. 第19回日本医用画像工学会 (2000.8.3-5, 大阪)
- S.-H. Hyon, D.-H. Kim: Proliferation control of cells and tissue preservation. International Symposium on Biomaterials and Drug Delivery Systems (2000.8.20-22 Korea)
- W. Cui, D.-H. Kim, M. Imamura, K. Inoue, S.-H. Hyon: The tissue-engineered pancreatic islets-Culturing the rat islets in the chitosan sponge. International Symposium on Biomaterials and Drug Delivery Systems (2000.8.20-22 Korea)
- D.-H. Kim, W. Cui, K. Inoue, S.-H. Hyon: Isolation of rat's endothelial cells by easy explant method and reconstruction of capillary-like network in the chitosan sponge. S.-H. Hyon. International Symposium on Biomaterials and Drug Delivery Systems (2000.8.20-22 Korea)
- S.-H. Hyon: Development of artificial articular cartilage and intervertebral disc using PVA hydrogel. The 8th Workshop on Advanced Functional Polymer Materials (2000.8.24 Korea)
- 岡 正典, 玄 丞然, 崔 寿昌, 谷山和宏, 藤田 裕, 牛尾一康, 中村孝志: 人工椎間板の開発に関する研究 (第6報). 日本整形外科学会 (2000.8.)
- 牛尾一康, 岡 正典, 玄 丞然, 金 度勲, 戸口田淳也, 中村孝志: オポリフェノールによる関節軟骨保存に関する研究. 日本整形外科学会 (2000.8.)
- 伊藤 啓, 石河正久, 原田敏明, 玄 丞然. 絹不織布の生体適合性: 第49回高分子討論会 (2000.9.28, 仙台市)
- 今村敏之, 沢井大輔, 金元哲夫, 玄 丞然: Uniaxial drawing of poly(L-lactic acid) melt-crystallized films. 第49回高分子討論会 (2000.9.28, 仙台)
- 金 奉哲, 玄 丞然, 堤 定美, 岩田博夫: ポリ乳酸の静水圧押し出し成形. 第12年度繊維学会秋季研究発表 (2000.10.5, 桐生)
- 堤 定美, 玄 丞然, 彭 春岩, 中島直喜, 松村和明: チタンインプラント表面における歯根膜再生の試み. 第4回日本金属学会ハイパフォーマンス・バイオマテリアル学会 (2000.10.6, 東京)
- 玄 丞然, 彭 春岩, 南部敏之, 松村和明, 堤 定美: 歯根膜を有する人工歯根の開発研究〔V〕歯根膜細胞の増殖コントロール. 第36回日本歯科理工学会 (2000.10.14-15, 岡山)
- 彭 春岩, 堤 定美, 野浪 亨, 寺岡 啓, 亀山哲也, 神谷 晶, 井汲憲治, 杉浦 勉: アパタイト粒子圧入チタンインプラントの組織学的検討. 第36回日本歯科理工学会 (2000.10.14-15, 岡山)
- 東 高志, 南部敏之, 堤 定美, 井上博志, 林 浩二, 伊藤 仁, 久津木学: 超高速 MRI を用いた顎関節運動計測. 第36回日本歯科理工学会 (2000.10.14-15, 岡山)
- 南部敏之, 堤 定美: パラレルメカニズムを利用した顎運動ロボットに関する研究 (第1報) パラレルメカニズムの応用について. 第36回日本歯科理工学会 (2000.10.14-15, 岡山)
- 太田 信, 玄 丞然, 姜 有峯, 堤 定美, 村上昌三, 麴谷信三: 軽度に架橋した人工関節用 UHMWPE の 2D および 3D 配向結晶化高分子学会予稿集 49(6): 39 (2000.9.27-29, 仙台)
- 松村和明, 玄 丞然, 中島直喜, 堤 定美, 岡 正典, 岩田博夫: ポリビニルアルコール高濃度溶液のゲル化高分

- 子学会予稿集 49(6):46 (2000.9.27-29, 仙台)
- Miho Oshiumi, Takeshi Honda, Sadami Tsutsumi: Biomechanical Ramification for Joint Structure After Changing of Condyle-Fossa Relationship 12th International Alexandria Dental Congress (2000.11.14-17, Alexandria, Egypt.)
- Sakayu Otsuka, Takashi Honda, Sadami Tsutsumi: Biomechanical Analysis for the Human Temporomandibular Joint by 3-Dimensional Finite Element Method 12th International Alexandria Dental Congress (2000.11.14-17, Alexandria, Egypt.)
- Shuhei Sumiyoshi, Takeshi Honda, Sadami Tsutsumi: Biomechanical Simulation of the Temporo-mandibular Joint Effect of Lubrication Mechanism 12th International Alexandria Dental Congress (2000.11.14-17, Alexandria, Egypt.)
- 高木順平, 岡 正典, 堤 定美, 吉田宏昭, 福田秀章, 中村孝志, 藤田 裕, 牛尾一泰: Bioactive 骨セメント使用における Stress Shielding の研究〔第2報〕第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17, つくば)
- 真多俊博, 赤木将男, 中村孝志, 中井隆介, 堤 定美: 人工肘関節コンポーネント周囲の応力解析〔第3報 連結モデルの冠状面における解析〕第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17, つくば)
- 中井隆介, 吉田宏昭, 東 高志, 堤 定美, 久津木学, 山口芳功, 吉武一貞, 井上博志, 林 浩二, 伊藤 仁: 咀嚼力による顎顔面骨のリモデリングのシミュレーション. 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17, つくば)
- 久津木学, 山口芳功, 吉武一貞, 中井隆介, 吉田宏昭, 東 高志, 堤 定美, 井上博志, 林 浩二, 伊藤 仁: 力学的不均衡による顎顔面形態の変形についての3次元リモデリングシミュレーション. 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17, つくば)
- 後藤昌昭, 久石正明, 香月 武, 村瀬晃平, 堤 定美: デジタルインプラントによる補綴治療を行った下顎骨再建例の3次元有限要素法を用いた力学的研究. 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17, つくば)
- 姜 有峯, 外山幸正, 堤 定美, 片山傳生, 青山栄一: スポーツによる頭部損傷低減に関する研究. 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17, つくば)
- 東 高志, 南部敏之, 堤 定美, 井上博志, 林 浩二, 伊藤 仁, 久津木学: 超高速 MRI を用いた顎運動計測〔第2報 総顎動静脈血流と咬合圧との関係〕第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17, つくば)
- 津田裕子, 太田 信, 岩田博夫, 堤 定美, 箕浦哲嗣, 坂井信幸, 永田 泉, 坂東利明: 共振強制振動法を用いた生体軟組織弾性率測定法の開発. 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17, つくば)
- 堤 定美: 顎顔面形態に関する4次元・生体力学シミュレーション. 京都大学霊長類研究所共同利用研究会 (2000.11.24-25, 犬山)
- S.-H. Hyon, F. Jin, S. Tsutsumi: Hydrostatic extrusion of poly(L-lactide). The 6th ISBP and 9th Annual BEPS Meeting (2000.12-16 U.S.A.)
- S.-H. Hyon, M. Ohta, Y.-B. Kang, S. Tsutsumi, M. Oka: Effect of compression ratio on wear and material properties of slightly cross-linked UHMWPE crystallized under uniaxial compression. Poly Millennium 2000 (2000.12.12-17 U.S.A.)

2) 講演・シンポジウム

堤 定美：顎顔面におけるバイオメカニクス（特別講演）。中日本矯正歯科医会第25回総会（2000.4.19, 名古屋）

S. Tsutsumi: Regeneration of Periodontal Ligaments around Dental Implants (invited Lecture). Korean Society for Biomaterial (2000.3.17 Seolu Korea)

S. Tsutsumi: Our Approach in Medical Simulation Engineering (Invited Lecture). Canbu National University Medical School, Seminar (2000.3.18-19 Seoul, Korea)

S. Tsutsumi: Fine Ceramics for Medical and Dental Applications (Invited Lecture) 10th Iketani Conference (2000.6.26-30, 軽井沢)

堤 定美：咬合とリモデリングに関する生体力学的シミュレーション（招待講演）。顎顔面バイオメカニクス学会（2000.7.21-22）

S. Tsutsumi: New Dental Biomaterials and Systems Developed in Our Department (Invited Lecture). 12th International Alexandria Dental Congress (2000.11.14-17 Alexandria, Egypt)

堤 定美：歯根膜を有する人工歯根の開発を目指して（特別講演）。大阪府病院歯科部長会（2000.12.9, 大阪）

生体組織工学研究部門

生体分子設計学分野

Department of Molecular Interaction and Tissue Engineering

【研究概要】

本研究分野では、軟骨・骨形成とその再生修復、組織血管化の分子機構の解明を主たるテーマとして、細胞レベルや分子レベルでの解析を行っている。現在の研究テーマは、以下の通りである。

1. 軟骨分化制御の分子機構に関する研究

マウス EC 由来 ATDC5 により *in vitro* 軟骨多段階分化モデルを構築し、軟骨分化を解析するスタンダードな系として国際的に用いられている。これを使って、1) 幹細胞の高い自己複製能が FGF シグナルに支配されていること、2) 前駆軟骨細胞の分化進展が BMP-2/4 と PTH/PTHrP シグナルによる正負の制御を受けていることを明らかにした。さらに、幹細胞からの軟骨細胞形成の制御機構の解明に発展している。

2. 関節軟骨再生の分子制御機構

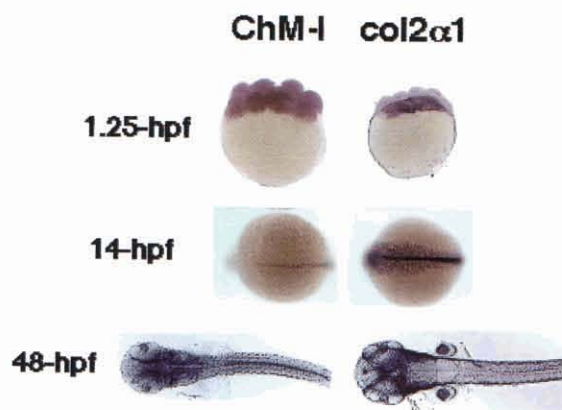
上記の成果を *in vivo* における関節軟骨全層欠損の再生修復誘導に応用した。その結果、欠損部内への FGF シグナルが骨髄由来の軟骨幹細胞の選択的遊走と自己複製に働いて、軟骨再生を誘導することを明らかにした。さらに、PTH シグナルが前駆軟骨細胞の分化を負に制御していることを示した。PTH 受容体の発現解析から前駆軟骨細胞マーカーとしての役割を明らかにしている。

3. 組織特異的血管侵入障壁を構成する血管新生抑制因子の研究

軟骨は間葉系組織のうちでは例外的に無血管な組織で、周囲からの血管侵入に強い抵抗性を示す。胎生期に形成された軟骨は、骨原基として機能している。ウシ胎仔軟骨から血管新生阻害因子 Chondromodulin-I (ChM-I) を発見し、骨格形成における役割を解析している。ChM-I 遺伝子の発現は、軟骨形成に先立つ初期発生段階にも特徴的なパターンを示した。現在、トリやゼブラフィッシュをモデルに体節や脊索における形態形成に対する役割を検討している。

ChM-I 分子中の血管新生抑制機能ドメインを生化学的手法により確定しつつある。

本年は、さらに現在想定している ChM-I 機能ドメインに高い相同性領域をもつ新たな遺伝子クローニングし、これを Tenomodulin (TeM) と命名した。TeM は ChM-I と全く異なる発現パターンを示し、毛細血管網に乏しいことが知られている腱や靱帯のような強靱結合組織に特異的であった。TeM 染色体遺伝子の解析から遺伝子改変動物の作成に至る研究に展開している。



ゼブラフィッシュの ChM-I をクローニングして、II 型コラーゲン遺伝子の発現パターンと比較した。ChM-I は母性 mRNA として受精卵の段階から既に存在し、体細胞での発現は脊索にまず現れる。ChM-I 遺伝子の発現は II 型コラーゲン遺伝子とよく似た発現パターンを示すが、一層狭い発現局在を示した。写真は、受精後 1.25 時間 (1.25-hpf)、14 時間 (14-hpf)、48 時間 (48-hpf) 後のパターンを示している。

(文責 宿南)

The proper growth and differentiation signaling from the surrounding extracellular environment regulates tissue formation and its functions. We are aiming at the elucidation of molecular interactions and signaling networks underlying bone and cartilage formation and vascularization.

1. Regulatory mechanism of chondrogenic differentiation.

We previously established the *in vitro* model of multistep chondrogenic differentiation using mouse EC cell line, ATDC5, which is currently used as one of the standard cell lines. Based on the analysis of this model, we proposed that the following signals are critical for chondrogenesis: 1) FGF signal participates in the rapid self-renewal of progenitors; 2) the balance of BMP-2/4 and PTH/PTHrP signals does in the progressive differentiation.

2. Regeneration of full-thickness defects of articular cartilage.

We applied the above model for the regulation of reparative responses in full-thickness defects of articular cartilage, and demonstrated that the supply of FGF signal determined the capacity of self-renewal of chondroprogenitors. Supplementation of FGF induced cartilage repair in the defect cavities. In contrast, PTH/PTHrP signal inhibited the progression of cartilage differentiation.

3. Angiogenesis inhibitors involved in tissue-specific anti-angiogenic barriers.

Cartilage is exceptionally anti-angiogenic among mesenchymal tissues. We identified an angiogenesis inhibitor in cartilage, and termed it chondromodulin-I (ChM-I). We demonstrated that ChM-I participated in angiogenic switching of cartilage phenotype during bone formation. Furthermore, we showed that ChM-I was expressed in somite and notochord during early mouse development. For the determination of anti-angiogenic functional domain in ChM-I, biochemical analysis of recombinant protein is also underway. Recently, we cloned a new gene having an anti-angiogenic domain homologous to that of ChM-I. We named it tenomodulin (TeM), since the gene was expressed in a tissue specific manner in dense connective tissue such as tendon and ligament.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- S. Kudo, H. Mizuta, Y. Otsuka, K. Takagi, and Y. Hiraki: Inhibition of chondrogenesis by parathyroid hormone in vivo during repair of full-thickness defects of articular cartilage. *J. Bone Miner. Res.*, 15, 253-260, 2000
- C. Shukunami, H. Akiyama, T. Nakamura, and Y. Hiraki: Requirement of autocrine signaling by bone morphogenetic protein-4 for chondrogenic differentiation of ATDC5 cells. *FEBS Lett.*, 469, 83-87, 2000
- I. Yanagihara, M. Yamagata, N. Sakai, C. Shukunami, H. Kurahashi, M. Yamazaki, T. Michigami, Y. Hiraki and K. Ozono: Genomic organization of the human chondromodulin-1 gene containing a promoter region which confers the expression of reporter gene in chondrogenic ATDC5 Cells. *J. Bone Miner. Res.*, 15, 421-429, 2000

- J. Guicheux, G. Palmer, C. Shukunami, Y. Hiraki, J. P. Bonjour and J. Caverzasio: A novel in vitro culture system for analysis of the functional role of phosphate transport in endochondral ossification. *Bone* 27, 69-74, 2000
- H. Akiyama, C. Shukunami, T. Nakamura, and Y. Hiraki: Differential expressions of BMP family genes during chondrogenic differentiation of mouse ATDC5 cells. *Cell Struct. Funct.*, 25, 195-204, 2000
- T. Takao, T. Iwaki, J. Kondo, and Y. Hiraki: Immunohistochemistry of chondromodulin-I in the human intervertebral discs with special reference to the degenerative changes. *Histochem. J.*, in press, 2000

2) 著書および総説

- Y. Hiraki and C. Shukunami: Chondromodulin-I as a novel cartilage-specific growth-modulating factor. *Pediatric Nephrology*, 14, 602-605, 2000
- 開 祐司: 骨・軟骨再生と間葉系幹細胞システム, *実験医学*, 18, 449-455, 2000
- 開 祐司: コンドロモジュリン-I と血管新生制御, *治療学*, 34, 384-387, 2000
- 宿南知佐, 開 祐司: コンドロモジュリン-I, *血管と内皮*, 10, 253-260, 2000
- 宿南知佐, 開 祐司: コンドロモジュリン-I と腫瘍血管新生制御, *分子がん治療*, 1, 38-45, 2000
- 宿南知佐, 開 祐司: 軟骨組織における血管新生の負の制御, *イラスト医学&サイエンス『血管研究の最前線に迫る』*, 羊土社, pp. 89-97, 2000
- 宿南知佐, 開 祐司: 血管形成制御因子, *蛋白質核酸酵素*, 45, 2131-2138, 2000
- 開 祐司, 宿南知佐: 血管侵入障壁としてのコンドロモデュリン-I, *医学のあゆみ*, 194, 775-780, 2000
- 宿南知佐, 開 祐司: 軟骨形成とサイトカイン, *実験医学*, 18, 2161-2166, 2000
- 開 祐司: 骨・軟骨形成における細胞分化と治療への応用, *血液・免疫・腫瘍*, 5, 373-377, 2000
- 開 祐司: 軟骨幹細胞の分化制御と臨床応用, 最新医学別冊「再生医学——21世紀の医学を展望する——」(中尾一和編), pp. 257-266, 2000

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

- Tadashi Hayami, Naoto Endo, Kunihiro Tokunaga, Chisa Shukunami, Hiroshi Hatano, Hiroshi Yamagiwa, Hiroyuki Kawashima, Yuji Hiraki and Hideaki E. Takahashi: Reactive chondrogenesis induced by chondrosarcoma —— difference of chondromodulin-I (ChM-I) mRNA expression between chondrosarcoma in vitro and in vivo ——, The 46th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (2000.3.12-15, Orlando)
- Tadashi Hayami, Hiroshi Yamagiwa, Kaori Mitui, Hiroshi Hatano, Taishi Ogawa, Yuji Hiraki, Hideaki E. Takahashi, Tadashi Yamamoto, and Naoto Endo: Decrease of Chondromodulin-I (ChM-I, cartilage specific vascular endothelial growth inhibitor) accelerates cartilage thinning with the vascular invasion in rat osteoarthritic cartilage, The 46th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (2000.3.12-15, Orlando)
- Koji Iida, Hiroki Watanabe, Yuji Hiraki, Kaori Mitsui, Jun Kondo, and Atsumasa Uchida: Prevention of

bone metastasis by a new angiogenesis inhibitor, The 46th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (2000.3.12-15, Orlando)

Sherri Weiss Sachdev, Uwe H. Dietz, Yusuke Oshima, Ela W. Knapik, Yuji Hiraki and Chisa Shukanami: Cloning and expression profile of the zebrafish chondromodulin-I gene, Cold Spring Harbor Symposium (2000.4.26-30, Cold Spring Harbor)

Sherri W. Sachdev, Uwe H. Dietz, 島佑介, Ela W. Knapik, 開 祐司, 宿南知佐: ゼブラフィッシュ Chondromodulin-I の cDNA クローニングと発現解析, 日本発生生物学会第33回大会 (2000.5.25-27, 高知)
工藤智志, 水田博志, 高木克公, 開 祐司: 関節軟骨修復過程における PTH/PTHrP 受容体発現に関する免疫組織学的検討, 第15回日本整形外科学会基礎学術集会 (2000.9.28-29, 京都)

中馬東彦, 水田博志, 高木克公, 開 祐司: 関節軟骨全層欠損部の軟骨再生に及ぼす FGF-2 投与期間の検討, 第15回日本整形外科学会基礎学術集会 (2000.9.28-29, 京都)

大島佑介, 本多淳一, 開 祐司, 宿南知佐: Chondromodulin-I 様ドメインを有する新規膜蛋白質 Chondromodokine の構造と発現パターン, 第23回日本分子生物学会年会 (2000.12.13-16, 神戸)

柴田洋之, 大島佑介, 近藤 淳, 宿南知佐, 開 祐司: 組換え Chondromodulin-I の単離精製及び機能性部位の解析, 第23回日本分子生物学会年会 (2000.12.13-16, 神戸)

渡辺尚子, 松野健治, 開 祐司, 守村直子, 安田雅文, 穂積信道, 手塚建一: NotchはHes-1を介して軟骨細胞分化を抑制する, 第23回日本分子生物学会年会 (2000.12.13-16, 神戸)

2) 講演会・シンポジウム等

開 祐司: 「再生医学ということを考える」, RD懇話会 (2000.3.8, 大阪)

開 祐司: 「軟骨分化制御と組織再生」, 「健康・予防医学とフューチャープロスペクト研究会」NIRO 第5回ワークショップ——細胞分化と組織再生の分子機構: DNA から組織まで—— (2000.3.14, 神戸)

開 祐司: 「軟骨の分化・形成」, 第73回日本薬理学会シンポジウム7, 骨・軟骨の再生及び形成促進は可能か? (2000.3.23, 横浜)

開 祐司: 増殖因子による軟骨組織修復, 第44回日本リウマチ学会シンポジウム「変形性関節症の軟骨破壊防止・修復による最新治療」(2000.5.13, 横浜)

開 祐司: 腫瘍血管新生に対するコンドロモジュリン-I の作用, 第32回日本結合組織学会シンポジウムⅢ「腫瘍・炎症の血管新生と細胞外マトリックス」(2000.5.24, 東京)

開 祐司: 再生医学と骨・軟骨形成機構高知工科大学物質・環境システム工学科特別セミナー (2000.5.27, 高知)

開 祐司: 腫瘍血管新生とコンドロモジュリン-I, 第5回 Vascular Medicine 学会 (指定演題) (2000.7.7, 東京)

開 祐司: コンドロモジュリン-I と血管新生の制御, 千里ライフサイエンスセミナー「血管新生とその制御」(2000.7.12, 大阪)

Chisa Shukanami: Function of chondromodulin-I (ChM-I) as a principal component of the anti-angiogenic barrier of cartilage, 第3回 Vascular Biology Conference (2000.7.21, 大津)

開 祐司: 間葉系幹細胞システムの活性化と軟骨再生の制御, 第24回阿蘇シンポジウム「発生・再生と医学」(2000.7.28, 熊本)

開 祐司: 内軟骨性骨形成と関節軟骨の修復, 運動器科学・賢島サマーセミナー (2000.8.27, 賢島)

- 開 祐司：組織幹細胞と軟骨再生，第73回日本組織培養学会シンポジウム『細胞治療の基礎と応用』（2000.9.7，岡山）
- 開 祐司：血管侵入障壁としての Chondromodulin-I の役割，第73回日本生化学会大会シンポジウム S9「血管新生研究とその臨床応用の新展開」（2000.10.11，横浜）
- Yuji Hiraki: Mesenchymal stem-cell system and regeneration of bone and cartilage, The 13th Annual Meeting of Japanese Association for Animal Cell Technology (JAACT), Symposium 3. "Mesenchymal Stem Cells for Reconstructive Surgery" (2000.11.17，福岡)
- 開 祐司：間葉系幹細胞システムの活性化と軟骨再生，第23回日本分子生物学会年会ワークショップ22. 骨格系細胞制御の分子シグナリングと組織再生（2000.12.13，神戸）
- 開 祐司：組織血管化の制御と ChM-I の機能，日本学術振興会未来開拓学術研究推進事業公開シンポジウム『血管新生と分化制御』セッション3. 血管侵入と組織間相互作用（2000.12.15，京都）

生体材料学分野 Department of Biomaterials

【研究概要】

本研究分野の目的は，医療に応用可能な方法，手段，および技術を材料科学の立場に立って研究開発していくことである。そのために必要なものが，生体材料である。生体材料とは，体の中で使用したり，あるいはタンパク質，細胞などの生体成分と直接に接触する状況で用いられる材料のことであり，本研究分野においては，高分子を主体とした生体材料のデザインと創製を行い，それらの材料の医療への応用を目指している。具体的には，再建外科治療のアシスト用生体材料あるいは薬物治療の効率の向上を目指したドラッグデリバリーシステム（DDS）のための生体材料についての研究開発を行っている。しかしながら，外科アシスト材料の生体適合性はまだまだ低く，代行できる機能も単一であることから，患者に高い Quality of Life (QOL) を与えることが困難である場合が多い。このような状況の中で生まれてきたのが，細胞を利用して生体の治癒力を高め，生体組織を再生しようという再生医学である。再生医学は免疫抑制剤を使わない点で臓器移植とは異なり，移植臓器不足の問題もない。再生医学には細胞，細胞の増殖・分化のための足場，および細胞増殖因子が必要であるが，これらの3つの要素をうまく利用していくために生体材料は必要不可欠である。特に，再生医学では，生体内で分解吸収され消失する材料（生体吸収性材料）が重要である。金属，セラミックスにこの生体吸収性をもたせることは難しく，この観点から高分子材料が主として利用されている。生体吸収性材料の利点は，材料の生体内での役割が果たされた後にその場から消失するため，再び取り出す必要がなく，また，材料の存在が生体組織・臓器の再生を妨げないことである。DDSにも材料の生体吸収性が要求される場合が多い。

本研究分野では，生体吸収性の高分子材料を中心とした再生医学のための生体材料，薬物，遺伝子治療，予防，診断，などに必要な DDS のための生体材料，あるいは外科および内科治療補助のための生体材料（生体適合性材料）の研究を行っている。以下にその内容をより詳しく述べる。

1) 再生医学のための生体材料

血液細胞以外のほとんどの細胞は、生体内では細胞外マトリックスと呼ばれる増殖・分化のための足場材料に接着して存在している。生体組織が大きく欠損した場合には、この足場も失われるため、欠損部に細胞のみを補ってやっても組織の再生は望めない。そこで、細胞の増殖・分化のための仮の足場を供給する必要がある。生体材料の役割はこの細胞の足場であり、本研究分野では、3次元あるいは多孔質構造をもつ生体吸収性の成形体（人工細胞外マトリックス）をデザイン、創製している。しかしながら、いかに足場が優れていても、細胞の数が少なかったり、細胞を増殖させる生体シグナルが足りなければ、生体組織の再生は望めないであろう。このような場合、細胞の増殖・分化を促す細胞増殖因子を用いるのが1つの現実的な解決法である。しかしながら、これらの因子はタンパク質であり、生体内での寿命が短く不安定であるため、その利用には工夫が必要である。たとえば、生体吸収性材料に細胞増殖因子あるいはその関連遺伝子を包含させ、再生部位で徐放化すれば、これによって組織の再生は促進される。本研究分野では、この徐放化担体のための生体材料をデザイン、創製している。再生医学の基本となるのは細胞であり、幹、前駆、および芽細胞などの単離、あるいはそれらの増殖・分化などに関する技術が必要となることはいうまでもない。これらの細胞の培養操作にも種々の材料の寄与は不可欠であり、本研究分野では、細胞の利用のための生体材料の研究も行っている。

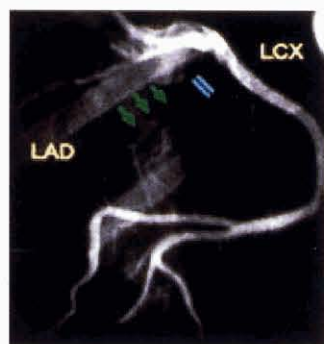
2) DDSのための生体材料

薬物が効くのは、薬物がその作用部位に適切に作用するからである。しかしながら、現実には、薬物は部位選択性がなく、その薬理作用を発現させるために大量投与が行われている。これが薬物の副作用を助長している主な原因である。そこで、薬物を必要な部位へ、必要な濃度で、必要な時期にだけ働かせるための試みが行われている。これがDDSであり、その目的は薬物の徐放化、薬物の長寿命化、薬物の吸収促進、および薬物のターゲティングなどである。いずれの目的にも、薬物を修飾するための生体材料が必要である。本研究分野では、生体材料学の観点からの薬物、遺伝子治療のためのDDS研究を行っている。加えて、全身あるいは局所、粘膜ワクチン、核磁気共鳴イメージング（MRI）、超音波診断などに対しても、その効果を高めるためにはDDS的工夫が不可欠であり、予防および診断医学に対するDDSの研究開発も行っている。

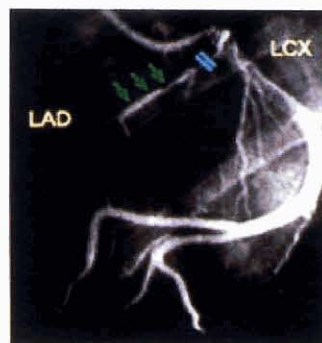
3) 生体適合性生体材料

本研究分野は、高分子材料を医療に応用していくという、本研究所の前身である生体医療工学研究センターの材料科学研究の流れを引いている。その中で、生体内で吸収する性質をもつ高分子材料を中心として、外科・内科治療の補助のための生体材料の研究開発を行っている。

〔再生の1例〕生体吸収性微粒子から徐放された細胞増殖因子によるイヌ心筋梗塞部における心臓冠状動脈の再生



細胞増殖因子の水溶液処理群



細胞増殖因子の徐放化材料処理群

冠状動脈の結紮部位
(青印)の抹消側の
血流が再開している。
(矢印↑↑↑)

材料科学的観点から、細胞の足場、細胞増殖因子あるいはその関連遺伝子の DDS, および幹（前駆、芽）細胞の利用のための材料に関する研究を行い、得られた研究成果技術を利用することによって、皮膚、骨、心臓冠動脈、脂肪、軟骨、神経、歯周組織、毛髪、心筋、腎臓などの組織、臓器の再生、あるいは DDS を用いた薬物治療、予防、診断などについて、医学部、歯学部との共同研究を通して、具体的な臨床応用を目指した研究を展開している。

(文責 田畑泰彦)

The main objective of our department is to study and develop methods, procedures, and technologies applicable to basic and clinical medicines on the basis of material sciences. The materials to use in the body and to contact biological substances, like proteins and cells, are defined as biomaterials. In our department, various types of biodegradable and non-biodegradable biomaterials of polymers are designed and created aiming at their clinical applications. We investigate biomaterials to assist reconstructive surgery and to apply to drug delivery systems (DDS) for improved therapeutic efficacy. However, it is often difficult for patients to improve their Quality of Life (QOL) by only the reconstructive surgery procedure because the biomaterials used are of poor biocompatibility and functional substitution. Under such circumstance, one therapeutic approach newly emerging is regenerative medicine. The objective is to regenerate injured or lost tissues and to substitute organ functions by making use of cells. The regenerative medicine is quite different from organ transplantation from the viewpoint of no need of immunosuppressive agents. The shortage of organ donor is not problematic for this medical therapy. Generally there are three factors necessary for regenerative medicine, such as cells, the scaffold for cell proliferation and differentiation, and growth factors. For successful regenerative medicine, it is indispensable to efficiently take advantage of various biomaterials for all the factors. Especially, biodegradable biomaterials play an important role in their medical applications. Since it is difficult to simply provide metals and ceramics the biodegradable nature, polymer materials of biodegradability have been used for this purpose. If a biomaterial is degraded to disappear in the body accompanied with its action accomplishment, it is not necessary to consider retrieval of the material from the body. In addition, it is likely that the material degradation does not physically impair tissue regeneration. There are some cases where biodegradability of biomaterials is required for DDS application.

Our research goal is to design and create biomaterials mainly from polymers which are practically applicable for regenerative medicine, DDS, and medical therapy including reconstructive surgery. More detailed explanations about every project are described.

1) Biomaterials for regenerative medicine

It is well recognized that cells are present in the living tissue adhering onto the natural scaffold for cell proliferation and differentiation or morphogenesis, namely extracellular matrix (ECM). When the body tissue is largely lost, the ECM itself will also disappear. In such a case, we cannot always expect the tissue regeneration at the large defect only by supplying cells to the defect. One way necessary for successful tissue regeneration is to provide a temporary scaffold for the proliferation and differentiation of cells to the defect. One of the biomaterial roles is this temporary cell scaffold and we are designing and creating 3-dimensional and porous constructs of biodegradability which is an artificial ECM.

However, even if a superior scaffold is supplied to the tissue defect, the tissue regeneration will not be achieved without sufficient number of cells and their proliferation signals. It is one of the practically possible ways to use growth factors to promote cell proliferation and differentiation. It is, however, necessary for in vivo use of growth factors to contrive their administration form because of the in vivo instability. One possible way is the controlled release of growth factor or its related gene at the site of tissue regeneration over an extended time period by incorporating the factor into an appropriate carrier. This release technology will enable the growth factor to efficiently exert the biological activity, resulting in promoted tissue regeneration. We are designing and preparing the release carrier from biodegradable biomaterials. As is mentioned above, cells are key for regenerative medicine. Undoubtedly, it is of prime importance to improve the procedure and technology for isolation, proliferation, and differentiation of cells. Many types of materials need to artificially manipulate cells. In this department, various biomaterials are being explored to effectively take advantage of stem, precursor, and blast cells for regenerative medicine.

2) Biomaterials for DDS

Generally drug does not have any selectivities for the site of action. Therefore, high-dose administration of drugs is necessary to achieve their in vivo therapeutic efficacy, while this often causes the severe adverse effect of drug. DDS is a trial which allows drug to timely act at the right site of action at the necessary concentration. The objective of DDS includes the controlled release of drugs, the prolongation of drug life-time, the acceleration of drug absorption, and the drug targeting. For every purpose, various biomaterials are inevitably required to achieve the DDS objective. DDS researches for drug and gene therapies are conducted from the viewpoint of polymer material science. This DDS technology is also needed for enhanced efficacy of vaccination or magnetic resonance imaging (MRI) and ultrasound diagnosis. We also focus on the DDS research for prophylactic and diagnostic applications.

3) Biomaterials for medical therapy

This department is partly originated from the division of Molecular Design and Biomaterials of the former Research Center for Biomedical Engineering where the medical applications of polymer materials have been investigated extensively. Among the research activities, we continue to design and create biomaterials from biodegradable polymers aiming at their assistance in surgical and physical therapies.

From the viewpoint of biomaterial sciences, we are pursuing comprehensive researches on the scaffold for the cell proliferation and differentiation, the DDS of growth factors, and the material technology to use stem, precursor, and blast cells. Through research collaborations with medical and dental schools, we are planning to apply our research results to concrete clinical trials in terms of the regeneration of tissues or organs, such as the skin, fat, bone, cartilage, nerve, hair, blood vessels, periodontium, myocardium, and kidney as well as the DDS applications for therapeutic, prophylactic, and diagnostic medicines.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Y. Tabata, M. Miyao, T. Inamoto, T. Ishii, Y. Hirano, Y. Yamaoka, and Y. Ikada: De novo regeneration of adipose tissue by controlled release of basic fibroblast growth factor, *Tissue Eng.*, 6(3): 279-289, 2000.
- L. Hong, Y. Tabata, S. Miyamoto, K. Yamada, I. Aoyama, M. Tamura, N. Hashimoto, and Y. Ikada: Promoted bone healing at a rabbit skull gap between autologous bone fragment and the surrounding intact bone with biodegradable microspheres containing transforming growth factor- β 1, *Tissue Eng.*, 6(4): 331-40, 2000.
- Y. Tabata, M. Miyao, M. Ozeki and Y. Ikada: Controlled release of vascular endothelial growth factor by use of collagen hydrogels, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 11(9): 915-930, 2000.
- Y. Tabata, L. Hong, S. Miyamoto, M. Miyao, N. Hashimoto, and Y. Ikada: Bone formation at a rabbit skull defect by autologous bone marrow combined with gelatin microspheres containing TGF- β 1, *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.*, 11(8): 891-901, 2000.
- Y. Tabata, M. Yamamoto, and Y. Ikada: Bone regeneration at rabbit skull defects by biodegradable hydrogels incorporating transforming growth factor β 1. *Biomedical Materials Research in the Asian (IV)* Xingdong Zhang and Yoshito Ikada eds., 24-25, 2000.
- Y. Tabata, M. Miyao, M. Yamamoto, and Y. Ikada: Vascularization into a porous scaffold through controlled release of basic fibroblast growth factor, *Biomedical Materials Research in the Asian (IV)* Xingdong Zhang and Yoshito Ikada eds., p148-149 (2000)
- M. Yamamoto, Y. Tabata, H. Kawasaki, and Y. Ikada: Promotion of fibrovascular tissue ingrowth into porous sponges by basic fibroblast growth factor, *J. Mater. Sci. Mater. in Med.*, 11: 213-218, 2000.
- M. Yamamoto, Y. Tabata, and Y. Ikada: Controlled release of growth factors from a biodegradable hydrogel for tissue engineering, *Biomedical Materials Research in the Asian (IV)* Xingdong Zhang and Yoshito Ikada eds., 41-42, 2000.
- A. John, Y. Tabata, M. Yamamoto, R. Sivakumar, and Y. Ikada: A trial to prepare collagen-hydroxyapatite composite in vitro, *Biomedical Materials Research in the Asian (IV)* Xingdong Zhang and Yoshito Ikada eds., 91-92, 2000.
- K. Kawai, S. Suzuki, Y. Tabata, Y. Ikada, and Y. Nishimura: Evaluation of basic fibroblast growth factor-impregnated gelatin microspheres incorporated into an artificial dermis, *Biomedical Materials Research in the Asian (IV)* Xingdong Zhang and Yoshito Ikada eds., 146-147, 2000.
- K. Kato, Y. Kikumura, M. Yamamoto, N. Tomita, S. Yamada, and Y. Ikada: Collagen immobilization onto the surface of artificial hair for improving the tissue adhesion, *J. Adhesion Sci. Technol.*, 14(5): 635-650, 2000.
- M. Yamamoto, Y. Tabata, L. Hong, S. Miyamoto, N. Hashimoto, and Y. Ikada: Bone regeneration by

- transforming growth factor (1 released from a biodegradable hydrogel, *J. Controlled Release* 64: 133-142, 2000.
- L. Hong, Y. Tabata, S. Miyamoto, M. Yamamoto, K. Yamada, N. Hashimoto, and Y. Ikada: Bone regeneration at rabbit skull defects treated with transforming growth factor- β 1 incorporated into hydrogels with different levels of biodegradability, *J. Neurosurg.*, 92(2): 315-325, 2000.
- Y. Tabata, T. Ishii, MD. Muniruzzaman, Y. Hirano, and Y. Ikada: Influence of gelatin complexation on cell proliferation activity and proteolytic resistance of basic fibroblast growth factor, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 11(6): 571-582, 2000.
- H. Nakase, K. Okazaki, Y. Tabata, S. Uose, M. Ohana, K. Uchida, Y. Matsushima, C. Kawanami, C. Oshima, Y. Ikada, and T. Chiba: Development of an oral drug delivery system targeting immune-regulating cells in experimental inflammatory bowel disease: A new therapeutic strategy, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 292 (1): 15-21, 2000.
- 仲瀬裕志, 岡崎和一, 河南智晴, 千葉 勉, 田畑泰彦, 筏 義人: Microsphereを用いた新しい経口治療法, 消化器科, 30(4): 426-430, 2000.
- A. Iwakura, Y. Tabata, K. Nishimura, T. Nakamura, Y. Shimizu, M. Fujita, and M. Komeda: Basic fibroblast growth factor may improve devascularized sternal healing, *Ann. Thorac. Surg.*, 70: 824-828, 2000.
- A. Iwakura, Y. Tabata, M. Miyao, M. Ozeki, N. Tamura, A. Ikai, K. Nishimura, T. Nakamura, Y. Shimizu, M. Fujita, M. Komeda: Novel method to enhance sternal healing after harvesting bilateral internal thoracic arteries, *Circulation*, 102: III307-III311, 2000.
- 河合勝也, 鈴木茂彦, 田畑泰彦, 平 嗣良, 筏 義人, 西村善彦: 抗菌性人工真皮の開発 — in vitro における評価 —, 日本熱傷学会会誌, 26(1): 35-45, 2000.
- K. Kawai, S. Suzuki, Y. Tabata, Y. Ikada, and Y. Nishimura: Accelerated tissue regeneration through incorporation of basic fibroblast growth factor-impregnated gelatin microspheres into artificial dermis, *Biomaterials*, 21: 489-499, 2000.
- C-F. Yang, T. Yoshikawa, Y. Tabata, H. Kimura, Y. Honda, Y. Ikada, and Y. Ogura: Experimental corneal neovascularization by basic fibroblast growth factor impregnated in gelatin hydrogel. *Ophthalmic Res.*, 32(1): 19-24, 2000.
- K. Morimoto, H. Katsumata, T. Yabuta, K. Iwanaga, M. Kakemi, Y. Tabata, and Y. Ikada: Gelatin Microspheres as a Pulmonary Delivery System: Evaluation of Salmon Calcitonin Absorption. *J. Pharm. Pharmacol.*, 52: 611-617, 2000.
- M. Yamamoto, Y. Ikada, and Y. Tabata: Controlled release of growth factors based on biodegradation of gelatin hydrogel, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, (in press).
- L. Hong, S. Miyamoto, N. Hashimoto, and Y. Tabata: Synergistic effect of gelatin microspheres incorporating TGF- β 1 and a physical carrier for fibrous tissue infiltration on skull bone formation, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 11(12): 1357-1369, 2000.
- J. Wang, Y. Tauchi, Y. deguchi, K. Morimoto, Y. Tabata, and Y. Ikada: Positively charged gelatin microsphere as gastric mucoadhesive drug delivery system for eradication of *H. pylori*. *Drug Delivery*,

7, 237-243, 2000.

- T. Yasukawa, H. Kimura, Y. Tabata, H. Miyamoto, Y. Honda, Y. Ikada, and Y. Ogura: Active drug targeting with immunoconjugates to choroidal Neovascularization, *Curr. Eye Res.*, (in press).
- Y. J. Gu, Y. Tabata, Y. Kawakami, A. N. Balamurugan, H. Hori, N. Nagata, A. Satake, W. X. Cui, R. M. G Qi, Y. Misawa, M. Toma, M. Miyamoto, M. Nozawa, K. Inoue: Development of a new method to induce angiogenesis at subcutaneous site of streptozotocin-induced diabetic rats for islet transplantation, *Cell transplantation*, (in press).
- N. Nagata, Y. J. Gu, H. Hori, A. N. Balamurugan, M. Toma, Y. Kawakami, W. J. Wang, A. Satake, Y. Misawa, T. Baba, M. Miyamoto, M. Nozawa, Y. Tabata, K. Inoue: Evaluation of Insulin Secretion of Isolated Rat Islets Cultured in Extracellular Matrix, *Cell transplantation*, (in press).
- A. N. Balamurugan, Y. J. Gu, Y. Tabata, M. Miyamoto, W. X. Cui, H. Hori, A. Satake, N. Nagata, W. J. Wang, K. Inoue: Prevascularized Intermuscular Space: A Potential Site for Bioartificial Pancreas Transplantation, *Cell transplantation*, (in press).
- 佐藤江利子, 笠原啓史, 篠崎芳郎, スベトラーナ・ボルチヒーナ, 田中越郎, 田畑泰彦, 安藤 潔, 折井正博, 小出司郎策, 盛 英三: 生体吸収性徐放化ゲルによる遺伝子導入効率の改善, 呼吸と循環 (in press).

2) 著書及び総説

- 田畑泰彦: 生体適合性材料と再生医療, 特集 21世紀における再生医療の役割, *BIO INDUSTRY*, 17, 5-11, 2000.
- Y. Ikada and Y. Tabata: Growth factor release from biodegradable hydrogels to induce neovascularization, in "Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology" Ed. by Don Wise, 725-742 Marcel Dekker Inc., 2000.
- 田畑泰彦: 再生医学の応用の現状と課題, マトリックスと DDS, 特集 再生医学と21世紀の医療; その進歩と課題, *Pharma Medica*, 18(1), 69-74, 2000.
- 田畑泰彦: ドラッグデリバリーシステム, 蛋白質 核酸・酵素, 45(13), 2179-2187, 2000.
- Y. Tabata: The importance of drug delivery systems in tissue engineering, *Pharmaceutical Science & Technology Today*, 3(3), 80-89, 2000.
- 田畑泰彦: 細胞成長因子の徐放化, *BIO Clinica*, 15(14), 19-23, 2000.
- 田畑泰彦: 組織工学 — この一年の進歩 —, *人工臓器*, 29(5), 614-615, 2000.
- Y. Tabata: Necessity of drug delivery systems to tissue engineering, *Biomaterials and Drug Delivery Toward New Millenium*, K. D. Park, I. C. Kwon, N. Yui, S. Y. Jeong, and K. Park Eds., Han Rim Won Publishing Co., 531-544, 2000.
- 田畑泰彦: 腸管免疫とワクチン, *臨床消化器免疫*, 日本メディカルセンター, 15(3), 323-329, 2000.
- 田畑泰彦, 筏 義人: 超音波による薬物の作用増強, *ケミカル・エンジニアリング* 4月号, 254-257, 2000.
- 田畑泰彦: 日本 DDS 学会 基礎医学研究者の立場から, *Drug Delivery System*, 15(6), 538-539, 2000.
- 田畑泰彦: DDS とバイオマテリアル, *生体材料*, 18(6), 270-272, 2000.
- 田畑泰彦: 歯周組織の再生医学, 歯周病 新しい治療を求めて 先端医療シリーズ・歯科医学 2, 岡田 宏, 石川 烈, 村山洋二監修, (株)厚徳社, 30-40, 2000.

- 田畑泰彦：金属の生体への影響——異物反応の基礎——金属系バイオマテリアルの基礎と臨床，(株)アイピーシー出版，335-346，2000.
- 山本雅哉，田畑泰彦，筏 義人：組織再生のための細胞成長因子のゼラチンヒドロゲルからの徐放，生体材料，18(4)，194-200，2000.
- 山本雅哉，田畑泰彦，筏 義人：機能応用編3章 組織と器官 異所性の骨形成，バイオメディックスハンドブック，長田義仁編集，(株)エヌ・ティー・エス出版，441-444，2000.
- 山本雅哉，田畑泰彦：循環器領域の再生医学，ハートナーシング，13(14)，1713-1720，2000.

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

- Y. Tabata, M. Yamamoto, M. Miyao, and Y. Ikada: Prevascularization by controlled release of basic fibroblast growth factor for porous scaffold, International Workshop on Bio-integrated Materials & Tissue Engineering (2000.1.20-21, つくば)
- Y. Tabata, M. Yamamoto, M. Ozeki, and Y. Ikada: Osteoinduction effect of bone morphogenetic protein released from a biodegradable hydrogel, International Workshop on Bio-integrated Materials & Tissue Engineering (2000.1.20-21, つくば)
- 顧 元駿，田畑泰彦，川上義行，佐竹 晃，宮本正章，野澤真澄，井上一知：糖尿病ラットにおける血管誘導後の同種脾島皮下移植に関する検討，第27回脾・脾島移植研究会（2000.3.4，仙台）
- 山本 豊，田中越郎，佐藤江利子，笠原啓史，安藤 潔，田畑泰彦，篠崎芳郎，中澤博江，盛 英三：ゼラチンハイドロゲルによる遺伝子導入効率の改善，第77回日本生理学会大会（2000.3.27，横浜）
- 尾関 真，田畑泰彦，山本雅哉，筏 義人：血管新生作用をもつ肝細胞増殖因子の徐放化，日本薬学会第120年会（2000.3.29-31，岐阜）
- 藪田俊之，岩永一範，掛見正郎，森本一洋，田畑泰彦，筏 義人：ゼラチンマイクロスフィアからのタンパク質医薬品の放出制御因子に関する研究2——架橋密度の違いによる放出への影響——，日本薬学会第120年会（2000.3.29-31，岐阜）
- 笠原啓史，佐藤江利子，折井正博，小出司郎策，田中越郎，篠崎芳郎，盛 英三，安藤 潔，田畑泰彦，坂本裕美，吉田輝彦：新たな血管新生因子 FGF4 を用いた遺伝子治療，第64回日本循環器学会学術集会（2000.4.1，大阪）
- 佐藤江利子，田中越郎，笠原啓史，スペトラーナ・ボルヒチーナ，田畑泰彦，安藤 潔，篠崎芳郎，折井正博，小出司郎策，盛 英三：徐放性ゲルによる遺伝子導入効率の改善，第64回日本循環器学会学術集会（2000.4.1，大阪）
- 上水流広史，木村英也，安川 力，田畑泰彦，本田孔士，小椋祐一郎：抗インテグリンモノクローナル抗体を用いたラットレーザー脈絡膜新生血管モデルに対する薬物ターゲティング，日本眼科学会第104回大会（2000.4.5-8，京都）
- 稲本 俊，田畑泰彦，宮尾 学，石井倫裕，大江正士郎，廣瀬哲朗，山岡義生：徐放性の basic fibroblast growth factor を用いた de novo での脂肪組織の再生，第100回日本外科学会総会（2000.4.12-14，東京）
- 顧 元駿，田畑泰彦，A. N. Balamurugan，川上義行，佐竹 晃，宮本正章，野澤真澄，井上一知：血管新生誘

- 導性バイオ人工臓器を用いたラット同種膵島移植に関する検討, 第100回日本外科学会総会 (2000.4.12-14, 東京)
- H. Kasahara, E. Tanaka, E. Sato, K. Ando, T. Yoshida H. Sakamoto, Y. Tabata, S. Koide, and H. Mori: Biodegradable GHG potentiates in vivo gene therapy without viral vectors, Experimental Biology 2000 (2000.4.16-20, San Diego)
- K. Morimoto, T. Yabuta, K. Iwanaga, M. Kakemi, Y. Tabata, and Y. Ikada: Design of Biodegradable Gelatin Microspheres for Controlled Release of Peptide and Protein, Millennial World Congress of Pharmaceutical Sciences (2000.4.16-20, San Francisco)
- 田畑泰彦, 洪 流, 宮本 享, 橋本信夫, 筏 義人: 骨髄細胞と徐放 TGF- β 1 を用いたウサギ頭蓋骨欠損部の再生, 第8回細胞療法研究会 (2000.4.27-28, 京都)
- 顧 元駿, 田畑泰彦, 川上義行, 佐竹 晃, 宮本正章, 野澤真澄, 井上一知: 糖尿病ラットの皮下血管誘導法に関する検討, 第8回細胞療法研究会 (2000.4.27-28, 京都)
- A. N. Balamurugan, 顧 元駿, 田畑泰彦, 崔 万興, 宮本正章, 井上一知: Induction of angiogenesis in intermuscular site for islet transplantation: Effect of gelatin microspheres containing basic fibroblast growth factor, 第8回細胞療法研究会 (2000.4.27-28, 京都)
- H. Kimura, T. Yasukawa, Y. Ogura, Y. Tabata, and Y. Honda: The potential of active drug targeting with immunoconjugates to choroidal neovascularization, Annual Meeting of Association for Research in Vision and Ophthalmology (2000.4.30-5.5, Florida)
- H. Miyamoto, T. Yasukawa, H. Kimura, Y. Ogura, Y. Honda, and Y. Tabata: Effect of tranilast on collagen gel contraction, proliferation, and TGF beta secretion of retinal pigment epithelial cells and fibroblasts, Annual Meeting of Association for Research in Vision and Ophthalmology (2000.4.30-5.5, Florida)
- H. Kamizuru, H. Kimura, T. Yasukawa, Y. Tabata, Y. Honda, and Y. Ogura: Monoclonal antibody-mediated drug targeting to laser-induced choroidal neovascularization in the rat, Annual Meeting of Association for Research in Vision and Ophthalmology (2000.4.30-5.5, Florida)
- T. Yasukawa, H. Kimura, Y. Ogura, H. Kamizuru, Y. Honda, and Y. Tabata: Targeting of interferon beta to choroidal neovascularization by use of dextran and metal coordination, Annual Meeting of Association for Research in Vision and Ophthalmology (2000.4.30-5.5, Florida)
- 福岡真一, 宮本将利, 横矢重俊, 木下鞠彦, 根岸秀幸, 川瀬俊夫, 小園 知, 田畑泰彦: 生体吸収性材料と細胞増殖因子を応用した顎骨再生に関する研究 — コラーゲンスポンジ内骨髄骨原生細胞の三次元培養, 第54回日本口腔科学会総会 (2000.5.13, 東京)
- Y. Tabata, M. Miyao, T. Inamoto, and Y. Ikada: De novo generation of adipose tissue by controlled release of basic fibroblast growth factor, Sixth World Biomaterials Congress (2000. 5.15-20, Hawaii)
- M. Yamamoto, Y. Tabata, M. Ozeki, M. Miyao, and Y. Ikada: Growth factor release from hydrogel carrier based on matrix degradation, 6th World Biomaterial Congress (2000.5.15-20, Hawaii)
- A. John, Y. Tabata, M. Yamamoto, R. Sivakumar, and Y. Ikada: Effect of Low-Intensity Pulsed Ultrasound on Mouse Calvaria MC 3T3 E1 Cells, 6th World Biomaterials Congress (2000.5.15- 20, Hawaii)

- A. N. Balamurugan, 顧 元駿, 田畑泰彦, 崔 万興, 宮本正章, 野澤真澄, 井上一知: Survival and function of transplantation rat islets at prevascularized intermuscular site-effect of angiogenesis induction, 第12回日本肝胆膵外科学会 (2000.5.17-19, 名古屋)
- 顧 元駿, 田畑泰彦, 川上義行, 佐竹 晃, 宮本正章, 野澤真澄, 井上一知: 糖尿病ラットにおける皮下血管誘導後の同種膵島移植に関する検討, 第43回日本糖尿病学会年次学術集会 (2000.5.24-26, 名古屋)
- A.N. Balamurugan, 顧 元駿, 田畑泰彦, 崔 万興, 宮本正章, 井上一知: Induction of angiogenesis in intermuscular site for islet transplantation: Effect of gelatin microspheres containing basic fibroblast growth factor, 第43回日本糖尿病学会年次学術集会 (2000.5.24-26, 名古屋)
- 尾関 真, 田畑泰彦, 藪田俊之, 山本雅哉, 筏 義人: 架橋度の異なるゼラチンハイドロゲルの生体吸収性, 第49回高分子学会年次大会 (2000.5.29-31, 名古屋)
- 尾関 真, 宮尾 学, 田畑泰彦, 西岡秀展, 洪 流, 筏 義人: アルギン酸を用いた生体吸収性スポンジの作製, 第49回高分子学会年次大会 (2000.5.29-31, 名古屋)
- 森本一洋, 藪田俊之, 勝又英之, 岩永一範, 掛見正郎, 田畑泰彦, 筏 義人: ゼラチンマイクロスフィアを用いたペプチド性医薬品の DDS 製剤の開発, 第9回 DDS カンファレンス (2000.6.3, 静岡)
- 山本雅哉, 尾関 真, 筏 義人, 田畑泰彦: ティッシュ・エンジニアリングのための細胞成長因子の徐放化, 第21回日本炎症学会 (2000.7.4-5, 東京)
- 平野義明, 西岡秀展, 宮尾 学, 洪 流, 田畑泰彦: アルギン酸ハイドロゲルの作製, 第46回高分子研究発表会 (2000.7.7, 神戸)
- 笠原啓史, 田中越郎, 佐藤江利子, 安藤 潔, 坂本裕美, 吉田輝彦, 田畑泰彦, 篠崎芳郎, 折井正博, 小出司郎策, 盛 英三: FGF4 遺伝子吸着ゼラチンハイドロゲルによる血管新生療法, 第5回 Vasclar Medicine 学会 (2000.7.7, 東京)
- Y. Tabata, M. Miyao, M. Yamamoto, and Y. Ikada: Vascularization by controlled release of basic fibroblast growth factor for tissue engineering, The 27th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials (2000.7.7-13, Paris)
- 榊原 裕, 山本雅哉, 丹原圭一, 仁科 健, 三和千里, 野本卓也, 半田宣弘, 田畑泰彦, 西村和修, 米田正始: 慢性虚血性心筋症ラットに対する心筋細胞移植の効果, 第4回心臓血管病科学カンファレンス (2000.7.15, 京都)
- A. John, L. Hong, Y. Ikada, and Y. Tabata: bFGF Effect on Proliferation of Mesenchymal Stem Cells, Second Smith & Nephew International Symposium (2000.7.16-19, Leeds)
- H. Ueda, L. Houg, K. Shigeno, T. Toba, M. Yoshitani, T. Nakamura, Y. Tabata, and Y. Shimizu: Biodegradation of Collagen Sponge Incorporating Transforming Growth Factor β 1, Second Smith & Nephew International Symposium Tissue Engineering 2000 Advances in Tissue Engineering, Biomaterials and Cell Signalling (2000.7.16-19, Leeds)
- H. Hosseinkhani, Md. Munirruzman, and Y. Tabata: Enhancement of in vitro gene transfection by Ultrasound, 第29回医用高分子シンポジウム (2000.7.24-25, 東京)
- 尾関 真, 山本雅哉, 田畑泰彦, 筏 義人: 生体吸収性ハイドロゲルを用いた肝細胞増殖因子の徐放, 第29回医用高分子シンポジウム (2000.7.24-25, 東京)
- 山本雅哉, 尾関 真, 田畑泰彦: 徐放化骨形成因子による異所性骨形成の促進, 第16回日本 DDS 学会 (2000.7.28)

-29, 秋田)

青山輝義, 小川 修: Hossein Hosseinkhani, 田畑泰彦, 超音波を利用したプラスミド遺伝子の導入効率増強の試み, 第16回日本 DDS 学会 (2000.7.28-29, 秋田)

上田寛樹, 洪 流, 茂野啓示, 鳥羽紀成, 吉谷 信, 福田正順, 中村達雄, 田畑泰彦, 清水慶彦: 熱架橋コラーゲンスポンジを用いた TGF- β 1 のコントロールリリース, 第16回日本 DDS 学会 (2000.7.28-29, 秋田)

安川 力, 田畑泰彦, 木村英也, 上水流広史, 本田孔士, 小椋祐一郎: 金属配位結合を利用したインターフェロン β の高分子化による加齢黄斑変性に対するターゲティング療法, 第16回日本 DDS 学会 (2000.7.28-29, 秋田)

上水流広史, 木村英也, 安川 力, 田畑泰彦, 本田孔士, 小椋祐一郎: 抗インテグリンモノクローナル抗体をキャリアとしたラットレーザー脈絡膜新生血管モデルに対するアクティブドラッグターゲティング, 第16回日本 DDS 学会 (2000.7.28-29, 秋田)

J. Wang, Y. Tauchi, Y. Deguchi, K. Morimoto, Y. Tabata, and Y. Ikada: Positively Charged Gelatin Microsphere as Gastric Mucoadhesive Drug Delivery System for Clearance of H. pylori, 第16回日本 DDS 学会 (2000.7.28-29, 秋田)

仲瀬裕志, 岡崎和一, 田畑泰彦, 内田一茂, 魚瀬 優, 大花正也, 西 俊希, 河南智晴, 千葉 勉: IL-10 含有 Gelatin microsphere を用いた炎症性腸疾患に対するサイトカイン療法の試み, 日本消化器免疫学会総会 (2000.8.3-4, 東京)

榊原 裕, 山本雅哉, 仁科 健, 三和千里, 野本卓也, 半田宣弘, 丹原圭一, 田畑泰彦, 西村和修, 米田正始: 慢性虚血性心筋症ラットに対する心筋細胞移植の効果, 第18回ヒト細胞学会 (2000.8.26, 京都)

Y. J. Gu, Y. Tabata, A. N. Balamurugan, M. Miyamoto, M. Nozawa, K. Inoue: Development of a method to induce angiogenesis at subcutaneous site of diabetic rats for islet transplantation, International Congress of the Transplantation Society (2000.8.27-9.1, Rome)

A. N. Balamurugan, Y. J. Gu, Y. Tabata, W. X. Cui, M. Miyamoto, M. Nozawa, K. Inoue: Survival and function of transplanted rat islets at prevascularized intermuscular site-effect of angiogenesis induction, International Congress of the Transplantation Society (2000.8.27-9.1, Rome)

H. Kasahara, E. Tanaka, E. Sato, M. Fujii, Y. Yamamoto, K. Ando, T. Yoshida, H. Sakamoto, Y. Tabata, S. Koide, and H. Mori: Biodegradable GHG potentiates gene therapy without viral vectors, The 8th Annual Meeting of the Asian Society for Cardiovascular Surgery (2000.9.7, 福岡)

岩倉 篤, 田畑泰彦, 榊原 裕, 西村和修, 藤田正俊, 米田正始: 心臓外科21世紀に向けての展望: バイオテクノロジー外科としての心臓血管外科 — 血管新生療法の様々な応用 (パネルディスカッション), 第48回日本心臓病学会 (2000.9.11-13, 大阪)

田畑泰彦, 洪 流, 山本雅哉: 徐放化細胞増殖因子による骨組織の再生, 第20回骨・カルシウム代謝研究会 (2000.10.6, 京都)

片岡 誠, 山崎裕加子, 坂根稔康, 山下伸二, 瀬崎 仁, 田畑泰彦: 溶解過程を組み込んだ Caco-2 吸収評価システム — 脂質分散系製剤からの薬物吸収性評価 —, 第15回日本薬物動態学会年会 (2000.10.11-13, 福岡)

顧 元駿, 田畑泰彦, A. N. Balamurugan, 堀 洋, 長田奈津紀, 藤間真紀, 宮本正章, 野沢真澄, 井上一知: 糖尿病ラットの皮下血管新生誘導法の確立, 第36回日本移植学会総会 (2000年10.11-14, 岐阜)

山田圭介, 宮本 享, 洪 流, 田畑泰彦, 岩田博夫, 筏 義人, 橋本信夫: 再生医工学の脳神経外科領域への応

- 用, 第59回日本脳神経外科学会総会 (2000.10.24, 福岡)
- 岡本 卓, 後藤正司, 榎屋大輝, 中島 尊, 亀山耕太郎, 林 栄一, 山本恭通, 黄 政龍, 横見瀬裕保, 中村達雄, 清水慶彦, 田畑泰彦: Bone Morphogenetic Protein-2 (BMP-2) 徐放ゼラチンスポンジによる自己気管軟骨再生の試み, 第53回日本胸部外科学会 (2000.10.25-27, 別府)
- 岩倉 篤, 洞井和彦, 西村和修, 米田正始, 田畑泰彦, 中村達雄, 清水慶彦: 糖尿病ラット両側内胸動脈採取後の胸骨治癒における basic fibroblast growth factor の効果 (一般演題), 第53回日本胸部外科学会総会, (2000.10.25-27, 別府)
- 榎原 裕, 丹原圭一, 仁科 健, 三和千里, 野本卓也, 半田宣弘, 湯浅貞稔, 山本雅哉, 田畑泰彦, 西村和修, 米田正始: 慢性虚血性心筋症ラットに対する心筋細胞移植の効果, 第53回日本胸部外科学会 (2000.10.26, 別府)
- 山本雅哉, 高橋佳丈, 尾関 真, 田畑泰彦: 骨形成因子の徐放化による異所性骨形成の促進, 日本バイオマテリアル学会シンポジウム2000 (2000.11.7-8, 横浜)
- 尾関 真, 田畑泰彦: 徐放化線維芽細胞増殖因子の毛包組織に対する効果, 日本バイオマテリアル学会シンポジウム2000 (2000.11.7-8, 横浜)
- 石井倫裕, 佐藤恵子, 平野義明, 稲本 俊, 田畑泰彦: 脂肪前駆細胞に与える bFGF の in vitro 添加効果, 日本バイオマテリアル学会シンポジウム2000 (2000.11.7-8, 横浜)
- 杉之下与志樹, 田畑泰彦, 千葉 勉, 筏 義人: 配位結合を利用したプルランとの複合体化によるヒト IFN 活性の肝へのターゲティング, 日本バイオマテリアルシンポジウム2000 (2000.11.7-8, 横浜)
- Y. Tabata, K. Doi, K. Nishimura, T. Nakamura, Y. Shimizu, and M. Komeda: Gelatin Sheet Incorporating Basic Fibroblast Growth Factor Enhances Healing of the Devascularized Sternum in Diabetic Rats, 73rd. American Heart Association (AHA) (2000.11.12-15, New Orleans)
- Y. Sakakibara, M. Yamamoto, K. Nishimura, T. Nishina, S. Miwa, N. Handa, T. Nomoto, K. Tambara, Y. Tabata, and M. Komeda: Prevascularization Using the Gelatin Microspheres Containing Basic Fibroblast Growth Factor Enhances the Benefits of Cardiomyocytes Transplantation in Rats with Ischemic Cardiomyopathy, 73rd. Scientific Sessions of American Heart Association (2000.11.12-15, New Orleans)
- M. Yamamoto, Y. Takahashi, and Y. Tabata: Osteoinduction by bone morphogenetic protein-2 released from biodegradable hydrogel, The 5th International Symposium on Tissue Engineering for Therapeutic Use (2000.11.16-17, つくば)
- N. Nagata, Y. J. Gu, H. Hori, A. N. Balamurugan, M. Miyamoto, M. Nozawa, Y. Tabata, and K. Inoue: Evaluation of insulin secretion of isolated rat islet cultured in extracellular matrix, The fifth international symposium on tissue engineering for therapeutic use (2000.11.16-17, つくば)
- Y. J. Gu, Y. Tabata, A. N. Balamurugan, M. Miyamoto, M. Nozawa, and K. Inoue: Development of a method to induce angiogenesis at subcutaneous site of diabetic rats for islet transplantation, The fifth international symposium on tissue engineering for therapeutic use (2000.11.16-17, つくば)
- J. Wang, Y. Tauchi, Y. Deguchi, K. Morimoto, and Y. Tabata: Modified Gelatin Microsphere as Gastric Mucoadhesive Drug Delivery System for Clearance of H. pylori. 第115回日本薬学会北海道支部例会 (2000.11.18, 小樽)

- K. Ogawa, K. Asonuma, I. Kim, Y. Inomata, Y. Tabata, and K. Tanaka: The efficacy of prevascularization by basic FGF for hepatocyte transplantation using polymer devices in rat, Third Biennial Tissue Engineering Society international (TESi) Meeting (2000.11.30-12.3, Florida)
- H. Nakase, K. Okazaki, Y. Tabata, N. Watanabe, M. Ohana, S. Uose, K. Uchida, T. Nishi, T. Itoh, C. Kawanami, and T. Chiba: A new cytokine delivery system using gelatin microspheres containing interleukin-10 for treatment of inflammatory bowel disease, Colloquium for the study of Gastrointestinal defense system (2000.12. 8, 京都)
- 岡本 卓, 後藤正司, 山本恭通, 黄 政龍, 横見瀬裕保, 中村達雄, 清水慶彦, 田畑泰彦: Bone Morphogenetic Protein (BMP) 徐放ゼラチンスポンジ (BMP-gs) による気管軟骨再生と自己骨膜補填の効果, 第30回日本創傷治癒学会 (2000.12.8-9, 東京)
- 石井倫裕, 佐藤恵子, 平野義明, 田畑泰彦: bFGF 添加による脂肪前駆細胞の増殖と分化, 第17回関西地区ペプチドセミナー (2000.12.9, 大阪)

2) 講演・シンポジウム

- 田畑泰彦: 分解吸収性材料を用いた骨 Tissue Engineering. 骨軟部吸収性材料フォーラム2000 (2000.3.25 京都)
- 田畑泰彦: 細胞増殖因子を利用してどれだけ生体組織は再生できるのか? 第15回バイオハイブリッド研究会 (2000.5.30 横浜)
- 田畑泰彦: ゼラチンマトリックスからのタンパク質の徐放化. 創剤フォーラム第6回シンポジウム「ペプチド, タンパク質のデリバリー」(2000.6.5 東京)
- 田畑泰彦: 金属配位結合を用いた薬物ターゲティング. 第18回生物薬剤学研究会 (2000.6.9 大阪)
- 田畑泰彦: 分解吸収性高分子を用いた DDS と再生医工学. 大阪薬科大学薬剤学フォーラム (2000.6.12 大阪)
- 田畑泰彦: ティッシュエンジニアリングへの DDS の役割. 北海道薬科大学製剤学特別セミナー (2000.6.20 札幌)
- 田畑泰彦: 生体吸収性ハイドロゲルによる再生医学. 北海道大学歯学部骨再生シンポジウム (2000.6.21 札幌)
- 田畑泰彦: Tissue Engineering における DDS の重要性. 京都薬科大学生物薬剤学特別セミナー (2000.6.26 京都)
- 田畑泰彦: 徐放化増殖因子による生体組織の再生促進の試み. 第21回日本炎症学会 (2000.7.4-5 東京)
- 田畑泰彦: 生体吸収性高分子を用いたティッシュエンジニアリング. 秋田大学医学部第100回生化学フォーラム (2000.7.27 秋田)
- 田畑泰彦: バイオデグラダブルポリマーと DDS への応用. 第16回日本 DDS 学会 (2000.7.28-29 秋田)
- Y. Tabata: Necessity of drug delivery systems to tissue engineering. The 2nd Asian International Symposium on Polymeric Biomaterials Science (2000.8.20-22 Cheju)
- Y. Tabata: Role of polymer materials on tissue engineering. The 1st NIST-KIST Joint Symposium on Polymer Science (2000.9.21-22 京都)
- 田畑泰彦: ゼラチンハイドロゲルによる薬物徐放化と組織再生. 東海大学医学会例会 (2000.10.4 伊勢原)
- 田畑泰彦: ティッシュエンジニアリングにおける生体分解吸収性高分子の重要性. 第130回日本獣医学会学術集会 (2000.10.9 大阪)
- 田畑泰彦: 再生工学におけるインテリジェントマテリアルの役割. 第20回星薬科大学大学院研究科助手会・自治会合同公開セミナー (2000.11.6 東京)
- 田畑泰彦: 生体材料と DDS 技術を利用した再生医工学への試み. 岩手医科大学歯学部特別セミナー (2000.11.9

盛岡)

田畑泰彦：再生医学における高分子の貢献。高分子学会高分子同友会「新材料・バイオについて勉強する会」
(2000.11.15 東京)

Y. Tabata: Release technology based on bioabsorbable hydrogels for tissue engineering. International Symposium on Smart Polymers (2000.12.6 神戸)

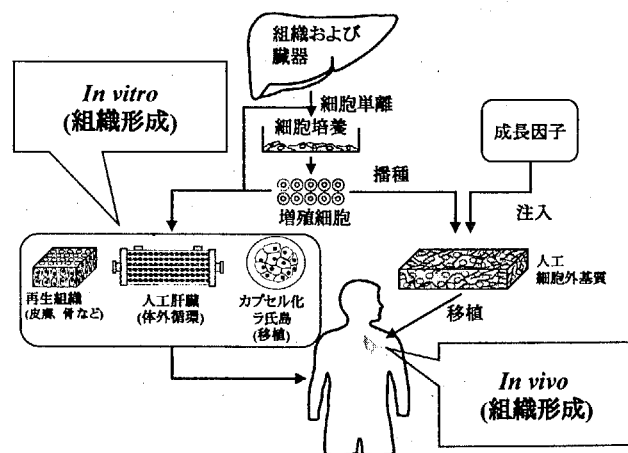
田畑泰彦：生体吸収性ハイドロゲルを用いた再生医工学。広島県産業科学研究所特別セミナー (2000.12.12 広島)

組織修復材料学分野 Department of Reporative Materials

【研究概要】

一般の人が“再生医学”という言葉からイメージすることは、“自分の細胞を用いて病気や事故で欠失した器官を再生する治療”であろう。臓器移植に伴う脳死の問題もなく、また、人工臓器のように機械を埋め込むわけでもないため、再生医学は医療として非常に受け入れやすいイメージが持たれている。しかし、再生医学は始まったばかりでそのレベルに達しておらず、現在、いろいろと模索を続けているところである。現在の研究例を図に示した。再生医学の名に一番すっきりあてはまるのは、患部に組織が再生できる空隙また足場を確保して自然な治癒過程を促進し、組織・器官の再生を行うことである。骨、皮膚、末梢神経、気管、食道の再生がこの研究例である。二番目として、自己の細胞をフラスコ内で増殖させて組織を再構築し、これを患部に移植して組織再生を行うことが挙げられる。皮膚や軟骨が例としてある。三番目は、現在のところ細胞を増殖させるのが不可能な場合、脳死者や他の動物から採取した細胞の移植である。これらの細胞を患者に移植すると当然拒絶反応を受ける。そこで拒絶反応から保護するために、細胞を半透膜で覆ってから移植することが試みられている。この例として、インスリン依存型糖尿病やパーキンソン病などの治療法の研究がある。図に示した最後の例はバイオ人工肝臓である。肝臓は極めて再生能の高い臓器として知られている。しかし、不思議なことに、肝細胞を大量にフラスコ内で増殖させることは現在でも不可能である。そこでブタ肝細胞を封じ込めたバイオ人工肝臓を用いて、患者自身の肝臓が再生してくるまでの1～2週間患者の肝機能を補助する試みが行われている。

本研究室においては、図に示した研究を臨床応用可能にするために、高分子材料の開発と試作品の評価を行っている。組織再生に必要な空隙また足場の確保には、細胞と親和性があり、かつ適当な期間の後に生体へ吸収される材料が必要である。合成生分解性材料の設計と合成、また、コラーゲン等の生体高分子の化学修飾を通じてこれを実現しようとしている。他人細胞や動物細胞の移植に用いる半透膜は、透過性を制限することで拒絶反応を防止でき、生体適合性がよく、さ



組織工学の概要

らに、長期にわたる移植においてもそれらの性質が損なわれない安定性が必要である。これらの要求を満たす高分子膜の開発を進めている。バイオ人工肝臓においては、高分子材料開発のみならず、それを一つのシステムに組み立てるための高分子加工の研究もしなければならない。以上の総ての研究に関連する事として、高分子材料は生体にとっては異物であるため、生体と接触すると種々の反応を惹起することを忘れてはならない。この反応を制御するためには、高分子材料とタンパク質や細胞との相互作用を知らなければならない。高分子材料と生体との界面で起こる反応の解析も進めている。

再生医療を実現するためには、細胞の確保が極めて重要である。胚性幹細胞（ES細胞）や組織幹細胞を増殖さらに分化させて必要な細胞を確保することが目論まれている。従来の再生医療の研究はマウスを用いて行われてきたため、細胞の量の確保にほとんど注意が払われてこなかった。マウスとヒトでは体重が3000倍も異なり、ヒトの再生医療では極めて大量の細胞を扱う必要がある。大量の細胞を培養するためには、それに適した培養基材と培養形態が必要である。また、動物の血液に酸素運搬体である赤血球が含まれることから明らかなように、大量の細胞を培養するためには、適当な酸素運搬体が必要である。さらに、幹細胞を望む機能を持った細胞へと分化させなければならない。分化を誘導する環境としての培養基材の開発も重要である。再生医療を実現するために培養基材、酸素運搬体や培養システムの構築の研究を進めている。

Department of Reporative Materials

Research is focused on preparation and modification of synthetic and natural materials for tissue engineered constructs. Current projects are aimed at developing tissue engineered medical devices with an emphasis on bioartificial pancreas, bioartificial liver and minimum invasive surgery. Related project investigate the interfacial phenomena between non-living materials and cells and tissue, and identify mechanism of adaptation in vivo.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- B. Zhu, H. Iwata, Y. Ikada: Immobilization of poly(ethylene imine) onto polymer films pretreated with plasma. J. Appl. Polym. Sci., 75: 576-582, 2000.
- B. Zhu, H. Iwata, I. Hirata and Y. Ikada: Hydrophilic modification of a polyimide film surface. J. Adhesion Sci. Technol., 14: 351-361, 2000.
- T. Sajiki, H. Iwata, H.-J. Paek, T. Tosha, S. Fujita, Y. Ueda, Y.-G. Park, B. Zhu, S. Satoh, I. Ikai Y. Yamaoka, and Y. Ikada: Morphologic studies of hepatocytes entrapped in hollow fibers of a bioartificial liver. ASAIO J., 46: 49-55, 2000.
- E. Uchida, H. Iwata, Y. Ikada: Surface structure of poly(ethylene terephthalate) film grafted with poly(methacrylic acid). Polymer 41: 3609-3614, 2000.
- H. Oowaki, S. Matsuda, N. Sakai, T. Ohta, H. Iwata, A. Sadato, W. Taki, N. Hashimoto, Y. Ikada: Non-adhesive cyanoacrylate as an embolic material for endovascular neurosurgery. Biomaterials, 21: 1039-

1046, 2000.

- T. Richey, H. Iwata, H. Oowaki, E. Uchida, S. Matsuda, Y. Ikada: Surface modification of polyethylene balloon catheters for local drug delivery. *Biomaterials*, 21: 1057-1065, 2000.
- X. Mo, H. Iwata, S. Matsuda, and Y. Ikada: Soft tissue adhesive composed of modified gelatin and polysaccharides. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, 11(4): 341-351, 2000.
- I. Hirata, Y. Morimoto, Y. Murakami, H. Iwata, E. Kitano, H. Kitamura, Y. Ikada: Study of complement activation on well-defined surfaces using surface plasmon resonance. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 18: 285-292, 2000.
- T. Sajiki, H. Iwata, H. J. Paek, T. Toshi, S. Fujita, Y. Ueda, Y. G. Park, B. Zhu, S. Satoh, and Y. Ikada: Transmission electron microscopic study of hepatocytes in bioartificial liver. *TISSUE ENGINEERING*, 6: 627-640, 2000.
- I. Hirata, H. Iwata, A. Bakar Md. Ismail, H. Iwasaki, T. Yukimasa and H. Sugihara: Surface modification of Si3N4-coated silicon plate for investigation of living cells. *Jpn. J. Appl. Phys.*, 39: 6441-6442, 2000.
- E. Itoh, S. Matsuda, K. Yamauchi, T. Oka, H. Iwata, Y. Yamaoka, Y. Ikada: Synthetic absorbable film for prevention of air leaks after stapled pulmonary resection, *J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomater.)* 53, 640-645, 2000.

2) 著書および総説

岩田博夫: 免疫隔離, 蛋白質 核酸 酵素, 45(13), 2171-2178, 2000.

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

- 当麻直樹, 岩田博夫, 川口健司, 村尾健一, 滝 和郎: 脳動脈瘤塞栓のためのナイチノール製コイルの開発, 脳卒中の外科学会 (2000.4.25-26 東京)
- 高 寅甲, 岩田博夫: 3次元組織の再構築, 繊維学会 (2000.6.7-9 京都)
- 日置泰典, 戸田満秋, 平田伊佐雄, 岩田博夫: OH基を有する混合自己組織化膜表面への補体タンパクの吸着, 第46回高分子研究発表会 (2000.7.7 神戸)
- 筏 義人, 岩田博夫, 榎敷俊信, 上田勇一郎, 藤田 聡, H. J. Paek, 高 寅甲, 下岡 豊, 山岡義生, 猪飼伊和夫, 金沢旭宣, 竹山 治, 西舩隆太, 桂 長門: バイオ人工肝臓の低温保存, 第46回高分子研究発表会 (2000.7.7 神戸)
- 上田勇一郎, Paek Hyun Joon, 高 寅甲, 下岡 豊, 岩田博夫, 桂 長門, 西舩隆太, 猪飼伊和夫, 山岡義生: バイオ人工肝臓灌流培養時のアミノ酸代謝, 第29回医用高分子シンポジウム (2000.7.24-25 東京)
- 高 寅甲, 岩田博夫, 3次元組織の再構築, 第29回医用高分子シンポジウム (2000.7.24-25 東京)
- 平田伊佐雄, 日置泰典, 村上能庸・岩田博夫, 北野悦子, 北村 肇: 表面プラズモン共鳴現象を用いた補体 C3 と水酸基を有する自己組織化単分子膜表面との相互作用の解析, 第29回医用高分子シンポジウム (2000.7.24-25 東京)
- 上田勇一郎, Paek Hyun Joon, 高 寅甲, 下岡 豊, 岩田博夫, 西舩隆太, 桂 長門, 猪飼伊和夫, 山岡義生:

全血灌流型バイオ人工肝臓の開発, 第38回人工臓器学会 (2000.9.27-29 三重)

当麻直樹, 岩田博夫, 川口健司, 村尾健一, 滝 和郎: 脳動脈瘤塞栓のためのナイチノール製コイルの開発, 第38回日本人工臓器学会 (2000.9.27-29 三重)

A. EL-Salmawy, I. K. Ko, T. Yamaoka, Y. Kimura and H. Iwata: Preparation of Biodegradable Hollow Fibers, 第38回日本人臓器学会 (2000.9.27-29 三重)

高 寅甲, 岩田博夫: 3次元組織の再構築, 日本バイオマテリアル学会シンポジウム2000 (2000.11.7-8 横浜)

当麻直樹, 岩田博夫, 川口健司, 村尾健一, 滝 和郎: FGF2 固定化コイルの開発, 日本脳神経血管内治療学会 (2000.11/17-19 仙台)

A. EL-Salmawy, I. K. Ko, T. Yamaoka, Y. Kimura and H. Iwata: Preparation of Various Biodegradable Fibers for Tissue Engineering, 再生医工学国際シンポジウム (2000.11.16-17 筑波)

Y. Murakami, E. Kitano, H. Iwata, H. Kitamura, and Y. Ikada: Interaction between Polyanions and Serum Complement System, The Sixth World Biomaterials Congress (2000.5.15-20, Hawaii)

I. Hirata, Y. Morimoto, Y. Murakami, H. Iwata, E. Kitano, H. Kitamura, and Y. Ikada: Study of complement activation on surfaces carrying hydroxyl groups by surface plasmon resonance, The Sixth World Biomaterials Congress (2000.5.15-20, Hawaii)

H. Iwata: Quantitative evaluation of metabolic functions of bioartificial liver, Bioartificial Organs III (2000.10.7-11, Switzerland)

Y. Ueda, H. J. Paek, T. Tosha, S. Fujita, Y. G. Park, B. Zhu, T. Sajiki, I. Hiroo, Y. Ikada, R. Nishitai, N. Katsura, I. Ikai, Y. Yamaoka: Cold preservation of bioartificial liver, Bioartificial Organs III (2000.10.7-11, Switzerland)

In kap Ko, Hiroo Iwata: An approach to construct 3-D tissue, Bioartificial Organs III (2000.10.7-11, Switzerland)

Y. Murakami, H. Iwata, E. Kitano, H. Kitamura, and Y. Ikada: Interaction between Polyanion and Serum Complement System, International Symposium on Smart Polymers, (2000.12.6, Kobe)

2) 講演・シンポジウム等

岩田博夫: Hybrid 人工肝臓の現状と将来, 日本医工学治療学会第14回学術大会 (2000.2.25-26 東京)

岩田博夫: マイクロカプセル化細胞 — その治療への応用 —, 日本薬学会第120年会 (2000.3.29-31 岐阜)

岩田博夫: 再生医工学 — 世界の現況と我々の試み —, 第7回日本臓器保存生物医学会総会 (2000.5.11-12 奈良)

岩田博夫: Tissue Engineering — 膵臓・肝臓を中心として, 日本機械学会2000年度年次大会・先端技術フォーラム (2000.8.1-4 名古屋)

H. Iwata: Tissue Engineering Applied to Pancreas and Liver, International Conference of Artificial Organs Research for the 21st Century (2000. 9.30 Mie)

岩田博夫, 滝 和郎: 脳血管内治療への高分子の応用, 第58回日本化学繊維研究所講演会 (2000.11.14 京都)

再生統御学研究部門

発生分化研究分野

Department of Development and Differentiation

【研究概要】

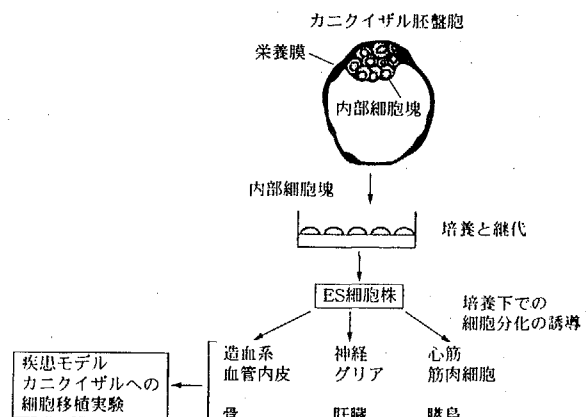
(1) マウス生殖細胞の発生分化機構：我々はこれまでに、始原生殖細胞の体外培養系を確立して雌性生殖細胞が減数分裂を開始する過程を培養下で進行させることに成功した。これを用いて、減数分裂への移行を制御する因子や、雌雄生殖巣体細胞との相互作用について解析を進めている。他方、マウス胎仔生殖細胞と生殖巣の発生分化に関わる遺伝子の検索を目的として、13日齢胎仔精巣と卵巣で発現する遺伝子の差次的クローニングを行ない幾つかの新規遺伝子を同定した。蛋白質分解酵素阻害因子シスタチンファミリーに属する *Testatin/Cresp* は性分化の初期から極めて精巣特異的に生殖細胞とセルトリ細胞に発現しており、現在その機能解析を試みている。また bHLH 型転写因子である *Pod-1/Capsulin* は精巣と卵巣の発生分化にともない、体細胞において複雑な性依存的発現パターンを示す。そして精巣分化において重要な働きをもつ *Ad4BP/SF-1* に対して転写抑制活性を持つことを見いだした。これらの遺伝子の機能解析を進めることによって、胎仔精巣の発生分化に関わる分子機構の解明が期待できる。一方、胎仔生殖巣と精巣内生殖細胞の発生分化においてアポトーシス制御の重要性が指摘されているが、その分子機構には未知の点が多い。アポトーシス抑制遺伝子である *Bcl-x* は生殖細胞において発現している。その遺伝子破壊マウスは胎仔死を起こすが、ヘテロマウスの生殖巣を詳細に調べたところ、精巣内生殖細胞の大規模な消失が起きていることを見だし、この遺伝子の生殖細胞における重要な役割が明らかとなった。また、精巣内生殖細胞への直接的遺伝子導入を行い、遺伝子が組み込まれた精子を用いた顕微受精によって極めて高率に遺伝子導入マウスの作出に成功した。この方法を用いて、減数分裂開始時期での遺伝子組み込みを狙った新たな発生工学手法の確立を目指している。

(2) ES細胞株の樹立と分化制御：当研究室ではこれまで多くのマウス系統からES細胞株を樹立した。これらのマウスES細胞株を用いて、培養下での分化制御について研究している。またカニクイザルの胚盤胞からES細胞株の樹立に成功して、それらの特性解析や安定した増殖維持方法の確立を目指した研究を行っている。

(3) 神経細胞の発生・分化を制御する分子機構：哺乳類の神経系には多種多様な神経細胞が存在し、これらの神経細胞の発生はHLH型転写因子で制御される。我々は、HLH型転写因子の *Mash1* や *Neurogenin2* の上流で機能する *MBH1* 転写因子や、下流で機能する *Paired* 様ホメオドメイン転写因子等を同定してきた。また、遺伝子機能を個体レベルで解析するため、電気穿孔法を用いてマウス胎仔脳へ高効率で遺伝子導入できる新しい実験系を確立した。神経細胞の多様性がどの様に形成されるのかを分子レベルで解明するため、これらの遺伝子群の転写制御や機能の解析を細胞と個体の両レベルで進め

霊長類ES細胞株の樹立と分化誘導による 細胞移植医療への応用

サルES細胞株の樹立と再生医学研究



ている。

- (4) マウス生殖細胞におけるX染色体インプリントの書き換え機構：哺乳類では、XX雌とXY雄との間の遺伝子量を補正するために、雌の2本のX染色体のうち1本を遺伝的に不活性化している。この現象がX染色体の不活性化である。マウス体細胞では父性X染色体と母性X染色体がランダムに不活性化する。これに対して、胎盤等の胚体外組織を形成する細胞では父性X染色体が優先的に不活性化し、ゲノムインプリンティング現象として知られている。我々は、生殖細胞系列においてX染色体のインプリントが書き換えられる過程に着目し、X-linked *lacZ* トランスジェニックマウスやX染色体に転座をもつマウスを用いて、成長期前の雌生殖細胞 (ng; non-growing) の核を、成長期後 (fg; fully growing) の生殖細胞に移植した。これらの再構成卵由来の胚でのX染色体の不活性化を解析した結果、1) X染色体の不活性化に関わるインプリントの書き換えは雌生殖細胞の卵成長期に起こる。2) fg 核の由来のX染色体は不活性化に対する抵抗性を獲得する。3) ng 核由来のX染色体は本来不活性化する性質をもつ事が明らかになった。
- (5) ゲノム再プログラム化に関わる因子の同定：体細胞核の除核未受精卵への核移植により体細胞ゲノムが再プログラム化され全能性を獲得する。我々は、未分化細胞との細胞融合により、体細胞核を培養条件下で再プログラム化することに成功している。生殖巣移入後の始原生殖細胞由来のEG細胞と体細胞の融合細胞核では、EG細胞の因子により体細胞のインプリンティングをも含む全ての後生的修飾 (Epigenetic modification) が再プログラム化されることを突き止めた。これに対して、ES細胞と体細胞の融合細胞は多分化能を獲得するが、体細胞DNAのメチル化インプリントを保持していた。つまり、EG細胞とES細胞はともに再プログラム能をもつが、その能力には差があることが明らかになった。現在、ゲノム再プログラム化をもたらす因子の同定を目的に、mRNA サブトラクション法によりEG細胞に発現量の多い遺伝子の単離と解析を進めている。単離された複数の候補遺伝子の塩基配列の解析から、これらの遺伝子が様々な転写因子と部分的にホモロジーをもつ事が判明した。今後、これらの遺伝子の解析が、再プログラム化機構の解明の手がかりになるであろう。

(1) *Development of germ cells and gonads.* We are studying development and differentiation of mouse germ cells. Recently, we developed a culture system that allows investigation of the entry into meiosis by germ cells and we found a strong inhibitory effect of the LIF/gp130 signaling on the meiotic transition by cultured germ cells. We also tried to identify novel genes involved in sex-differentiation of germ cells and gonads by using the subtraction and differential hybridization method. *Pod-1/Capsulin* contains typical bHLH domains and shows an interesting and complex expression patterns during the sex-differentiation of mouse gonads. Another gene *Testatin/Cresp* shows very specific expression in spermatogonia and Sertoli cells in testis from the very early stage of sex-differentiation. We are now examining their functions in gonad and germ cell development. Also, we have succeeded to develop a novel method of introducing foreign genes into spermatogenic cells in the testis and subsequent production of transgenic mice by in vitro fertilization using transfected spermatozoa.

(2) *Embryonic stem cell lines.* We have established many ES cell lines from various mouse strains. Using such cell lines, we are studying regulation of cell differentiation in culture. We have also established several primate ES cell lines from monkey blastocysts, as the first step of the application study for regenerative medicine.

(3) *Molecular mechanisms to control neural development and neuronal differentiation.* The mammalian

nervous system comprises an enormous number of cell types. We have been trying several approaches at the both cellular and molecular levels to understand how the different cell types are generated. bHLH transcription factors, such as *Mash1* and *Neurogenin* have been established to play important roles in mammalian neurogenesis and we are focusing on their transcriptional cascades. PHD genes, such as *PHD1* and *DRG11* are expressed downstream of *Mash1* and *Neurogenin2*, respectively. A homeobox gene, *MBH1*, is expressed in a complementary pattern to *Mash1* and overlapping with *Neurogenin2* in the developing diencephalon. Forced expression of *MBH1* downregulates *Mash1* expression and upregulates *Neurogenin2*, suggesting that *MBH1* is a regulator of the bHLH genes. We have also established a novel method to introduce DNA into mouse embryonic brains efficiently using electroporation. In order to clarify the relation between *MBH1* and bHLH genes and between bHLH and PHD genes, we are analyzing transcription regulatory sequences of the genes and their function in cultured cells and mouse embryos.

(4) *Imprinting Switching for Non-random X-chromosome Inactivation during Mouse Oocyte Growth.* In mammals X chromosome inactivation occurs in all female cells, leaving only a single active X chromosome. This serves to equalise the dosage of X-linked genes in male and female cells. In the mouse the paternally derived X chromosome (X^P) is imprinted and preferentially inactivated in the extraembryonic tissues whereas in the embryonic tissues inactivation is random. To investigate how X^P is chosen as an inactivated X chromosome in the extraembryonic cells, we have produced experimental embryos by serial nuclear transplantation from non-growing (ng) oocytes and fully grown (fg) oocytes. In the extraembryonic tissues of these ng/fg embryos, the maternally X chromosome (X^M) derived from the ng oocyte was preferentially inactivated whereas that from the fg oocyte remained active. However, in the embryonic tissues X inactivation was random. This suggests that: 1) a maternal imprint is set on the X^M during oocyte growth, 2) the maternal imprint serves to render the X^M resistant to inactivation in the extraembryonic tissues, and 3) the X^M derived from an ng oocyte resembles a normal X^P

(5) *Nuclear Reprogramming of Somatic Cells by In Vitro Hybridization with ES and EG cells.* Successful animal cloning by nuclear transplantation demonstrates that maternal cytoplasmic factor of oocytes is capable of renewing somatic epigenotype to totipotential epigenotype. We found that similar epigenetic reprogramming of somatic nuclei was induced by *in vitro* cell fusion with embryonic germ (EG) cells derived from gonadal primordial germ cells and embryonic stem (ES) cells from blastocysts of mouse. Somatic nuclei were reprogrammed in EG x somatic and ES x somatic hybrid cells. However, DNA methylation imprint of somatic nuclei was erased in EG x somatic hybrid cells, but not in ES x somatic hybrid cells. On the basis of these findings, we are trying to identify factors responsible for nuclear reprogramming of somatic cells by an mRNA subtraction between ES and EG cells. Sequence analysis of several candidate genes picked up by screening of cDNA library of EG cells with subtractive probes revealed that many of these genes have partial homology to some transcriptional factors. We predict that further analyses of these genes give us an important clue to elucidate mechanism of epigenetic reprogramming.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Tada, T., Obata, Y., Tada, M., Goto, Y., Nakatsuji, N., Tan, S.-S., Kono, T. and Takagi, N.: Imprint switching for non-random X-chromosome inactivation during mouse oocyte growth. *Development* 127: 3101-3105 (2000).
- Huang, Z., Tamura, M., Sakurai, T., Chuma, S., Saito, T. and Nakatsuji, N.: In vivo transfection of testicular germ cells and transgenesis by using the mitochondrially localized jellyfish fluorescent protein gene. *FEBS Lett.* 487: 248-251, 2000.
- Nakatsuji, N. and Chuma, S.: Differentiation of mouse primordial germ cells into female or male germ cells. *Int. J. Dev. Biol.*, (in press).
- Chuma, S. and Nakatsuji, N.: Autonomous transition into meiosis of mouse fetal germ cells in vitro and its inhibition by gp130-mediated signaling. *Devel. Biol.*, (in press).

2) 著書および総説

- 中馬新一郎, 中辻憲夫: 胎仔生殖系列細胞の発生と操作. *遺伝子医学* 4, 264-268 (2000).
- 中辻憲夫: 幹細胞工学概論. 蛋白質核酸酵素 臨時増刊号「再生医学と生命科学」(編者 浅島 誠・岩田博夫・上田 実・中辻憲夫), 2037-2039 (2000).
- 中辻憲夫: ヒト多能性幹細胞株 (ES・EG細胞株). 蛋白質核酸酵素 臨時増刊号「再生医学と生命科学」(編者 浅島 誠・岩田博夫・上田 実・中辻憲夫), 2040-2046 (2000).
- 中辻憲夫: ヒトES細胞株の樹立と細胞療法への応用. *現代医療* 32(11), 2573-2579 (2000).
- 廣瀬哲朗・中辻憲夫: 幹細胞研究概説. *カレントセラピー* 18(10), 1840-1845 (2000).
- 廣瀬哲朗・中辻憲夫: ES細胞の Tissue Engineering への応用. *細胞* 32(9), 338-342 (2000).
- 中辻憲夫, 末盛博文: ヒトES細胞とガイドライン. *最新医学 別冊「再生医学——21世紀の医学を展望する」* 31-43 (2000).

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

- Saito, T., Hama, T., Saba, R. and Nakatsuji, N.: Mammalian Bar-class homeobox genes. *Gordon Research Conference on Neural Development* (2000.7.2-7, Newport, USA).
- Tada, T., Torii, R., Hosoi, Y., Kondo, Y., Imahie, H., Kobayashi, K., Iritani, A. and Nakatsuji, N.: Embryonic stem cell lines established from primate species and mouse strains derived from Asian wild mice. *International Congress on Differentiation and Cell Biology*. (2000.9.26, Gold Coast).
- Tada, M., Hatano, S.-Y., Nakatsuji, N. and Tada, T.: In vitro nuclear reprogramming of somatic cells in ES hybrid and EG hybrid cells. *Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Germ Cells* (2000.10.7, Cold

Spring Harbor).

Tamura, M., Huang, Z., Sakurai, T., Chuma, S., Saito, T. and Nakatsuji, N.: Mammalian transgenesis at a high efficiency accomplished by gene transfection into testicular germ cells and in vitro fertilization (ICSI). Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Germ Cells (2000.10.7, Cold Spring Harbor).

Saito, T., Hama, T., Saba, R. and Nakatsuji, N.: Mammalian Bar-class homeobox genes and functional analysis using electroporation. Society for Neuroscience 30th annual meeting (2000.11.8, New Orleans).

多田政子, 中辻憲夫, 多田 高: マウス未分化細胞のゲノム再プログラム化能. 日本発生生物学会第33回大会 (2000.5.25, 高知)

斉藤大樹, 三宅顕三, 磯貝大介, 川村貴一, 斉藤 直, 木下政人, 鈴木 徹, 中辻憲夫, 中辻孝子: シロウオ (*Leucopsarion petersii*) 未受精卵への GFP 遺伝子導入. 日本発生生物学会第33回大会 (2000.5.25, 高知)

紙本幹子, 斉藤大樹, 三宅顕三, 鈴木 徹, 中辻憲夫, 中辻孝子: シロウオ (*Leucopsarion petersii*) において単一のゲノム遺伝子から転写されている2つの *Otx-1* の発現. 日本発生生物学会第33回大会 (2000.5.25, 高知)

斉藤大樹, 紙本幹子, 三宅顕三, 吉江勇一, 山羽悦郎, 鈴木 徹, 中辻憲夫, 中辻孝子: シロウオ 8細胞期の動・植物割球分離による初期発生に関する研究. 日本発生生物学会第33回大会 (2000.5.27, 高知)

黄振 勇, 田村勝他: 生体内電気穿孔法によるマウス生殖細胞への遺伝子導入と遺伝子導入動物の作成. 日本発生生物学会第33回大会 (2000.5.27, 高知)

浜 太郎, 佐波理恵, 中辻憲夫, 斎藤哲一郎: 神経分化における MBH ファミリー遺伝子の解析. 日本発生生物学会第33回大会 (2000.5.27, 高知)

斎藤哲一郎, 佐波理恵, 浜 太郎, 中辻憲夫: 転写因子による Neuronal Identity 決定の機構. 日本生化学会第73回年会 (2000.10.12, 横浜)

多田 高: サル胚盤胞からの ES細胞株の樹立. シンポジウム「再生医学を見据えた ES細胞株樹立と分化誘導研究」第53回日本細胞生物学会 (2000.10.31, 福岡)

多田政子, 秦野慎矢, 中辻憲夫, 多田 高: ゲノム初期化に関わる因子同定の試み. ワークショップ「エピジェネティクスの分子基盤」第23回日本分子生物学会 (2000.12.13, 神戸)

中辻憲夫: マウス胎仔精巣の発生分化に関わる新たな遺伝子. ワークショップ「哺乳類の雄性生殖細胞分化」第23回日本分子生物学会年会 (2000.12.14, 神戸)

忽那純子, 中辻憲夫, 斎藤哲一郎: *in vivo* electroporation 法によるマウス胎仔脳への高効率遺伝子導入. 日本分子生物学会第23回年会 (2000.12.14, 神戸)

笠井慎也, 中馬新一郎, 本山 昇, 中辻憲夫: マウス生殖細胞のアポトーシス制御における *Bcl-x* の役割. 日本分子生物学会第23回年会 (2000.12.15, 神戸)

小野隆之, 佐藤 純, 斎藤哲一郎, 西郷 薫: ショウジョウバエの homeobox 遺伝子対 *BarH1/BarH2* とその異種ホモログ間における機能保存性についての解析. 日本分子生物学会第23回年会 (2000.12.15, 神戸)

秦野慎矢, 多田政子, 中辻憲夫, 多田 高: 未分化細胞に特異的な遺伝子発現制御機構の解析. 第23回日本分子生物学会 (2000.12.16, 神戸)

松本健一, 高山範康, 高橋和久, 白吉安昭, 中辻憲夫, 有賀寛芳: 癌細胞の増殖, 浸潤, 転移におけるテネイシン X の役割. 第23回日本分子生物学会 (2000.12.16, 神戸)

2) 講演・シンポジウム等

Nakatsuji, N., Chuma, S. and Tada, T.: Cell culture study and manipulation of mouse embryonic stem cells and primordial germ cells. International Workshop on Stem Cell Biology and Cellular and Molecular Treatment (2000.2.22, Tokyo).

中辻憲夫：マウス生殖巣の性分化に関わる遺伝子検索と精巣特異的遺伝子 *testatin/cresp*. 大阪大学微生物病研究所公開シンポジウム「Molecular Biology of Mammalian Spermatogenesis」(2000.2.1, 吹田)

多田 高：ES細胞とEG細胞のゲノムリプログラミング能. 国立遺伝学研究所研究集会「DNAメチル化にもとづくゲノム機能のダイナミズム」(2000.3.17, 三島)

中辻憲夫：ES細胞と生殖系列細胞の発生分化と再生医学. 近畿大学生物理工学研究所公開シンポジウム (2000.5.16, 和歌山県打田町)

多田 高：ゲノム初期化に関わる因子同定の試み. 大阪大学蛋白質研究所セミナー「染色体DNAのメチル化調節機構とその機能」(2000.9.19-20, 吹田)

Nakatsuji, N.: Establishment of embryonic stem cell lines and prospects for regenerative medicine. BioJapan 2000 Symposium (2000.9.28, Tokyo).

Nakatsuji, N.: Primate and mouse embryonic stem cells for biomedical research. The 5th International Symposium on Tissue Engineering for Therapeutic Use (2000.11.17, Tsukuba).

再生誘導研究分野 Department of Medical Embryology and Neurobiology

【研究概要】

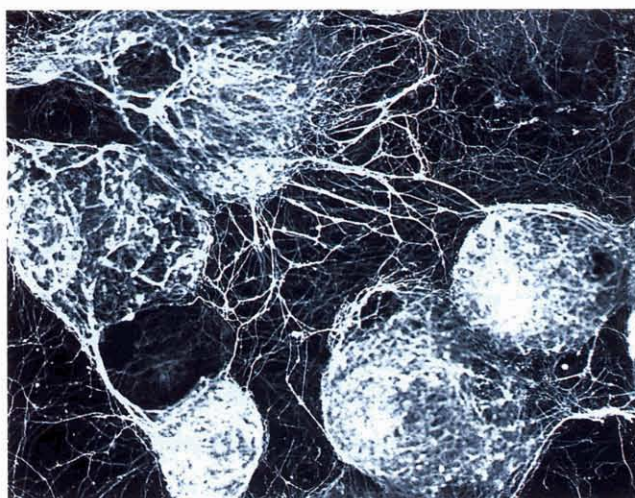
本研究室では哺乳類を含めた脊椎動物の初期発生、特に神経系の発生制御の分子機構を中心に研究を進めている。さらにその知見をもとに試験管内での神経分化系を確立し、再生医学応用への基盤を確立する。笹井は以前に75年前ハンス・シュペーマンが予言した神経誘導因子 Chordin をアフリカツメガエルの系を用いて単離し、その機能を解析してきた。Chordin は新規の分泌因子で未分化外胚葉に作用すると、これを神経組織に分化誘導する活性を有する。Chordin のショウジョウバエの相同遺伝子 Sog もハエの神経形成の制御因子であることが判明し、広く動物界でこの因子が神経分化の上流制御因子として働いていることが明らかとなった。現在の主たるプロジェクトは、

- (1) 未分化外胚葉細胞から神経への分化制御機構
- (2) ニューロンの多様性と領域化獲得の分子基盤
- (3) マウス ES (胚性幹) 細胞からの試験管内神経分化系の確立

である。

(1)については主として長い研究の歴史があり分子解析が最も進んでいるアフリカツメガエルを用いて解析した。過去3年間に Chordin によって細胞内に活性化される下流遺伝子の系統的スクリーニングを行い、複数の興味深

い遺伝子を同定した。そのうち3つの転写因子は神経予定領域にごく初期より発現しており、Chordinの神経誘導活性を媒介する因子として考えられた。初期胚のなかでSoxDの活性をドミナント・ネガティブ変異体を用いて機能阻害すると、前脳（大脳、間脳）が発生しないことが明らかになった。もう一つの転写因子Sox2を同じく初期胚で機能阻害すると、神経系全体（中枢神経、末梢神経とも）の発生が抑制された。これらのことは、SoxDは前脳の発生に必須因子であり、Sox2は神経そのものの発生に不可欠であることを示した。詳しいタイムコースを調べた結果Sox2は神



マウスES細胞から試験管内で分化させたニューロン

経分化の初発段階より少し後で原腸期後期に神経上皮から神経前駆細胞が分化するのに必須因子であることが判明した。(2)については、神経系のパターン形成に関与する分泌因子をシグナル・ペプチド・セレクション法を用いて、系統的に単離した。そのうち新規の分泌因子Kielinは中枢神経系の背腹軸決定の中心である底板に発現しており、現在神経パターン形成での役割を検討中である。(3)マウスES細胞から試験管内で神経前駆細胞やニューロンを分化させる系を確立した。ES細胞をBMP4非存在下にPA6等のストローマ細胞と無血清培地で共培養すると、ほぼ選択的に神経前駆細胞に分化することを明らかにした。これはストローマ細胞の細胞表面に存在する誘導活性によることが照明され、ストローマ由来誘導活性(SDIA)と名付けられた。さらにSDIA存在下にBMP4を作用させると神経分化は抑制され、代わりに表皮への分化が促進された。SDIA法で分化誘導されたニューロンは効率でドーパミンを産生することも明らかとなり、パーキンソン病への細胞移植への利用の可能性が示唆された。また、細川グループは遺伝的老化促進マウスSAMを用いて、遺伝学的、病理学的、及び生化学的研究を進めている。骨、関節、神経をはじめとする生体老化のモデルとして、解析を進めている。

Department of Medical Embryology & Neurobiology focuses on molecular mechanisms underlying early vertebrate development, especially development of nervous systems. We are also aiming at medical application of in vitro differentiation of neurons.

Before Sasai started his lab in this institute, he had isolated a neural inducer, Chordin, which had been predicted by the Nobel Prize winner Hans Spemann. Chordin, a novel secreted factor, can induce neural tissues from immature ectoderm, which otherwise gives rise to epidermis. Interestingly, the Drosophila homologue of Chordin, sog, turned out to be an upstream regulator of neurogenesis in fly, suggesting that Chordin is used ubiquitously for neural regulator in the animal kingdom.

Our current projects are as follows:

- (1) Molecular control of neural differentiation from uncommitted ectoderm.
- (2) Molecular basis for diversity of neurons.
- (3) in vitro differentiation of ES cells into neural tissues.

(1) By using the Xenopus system, we have systematically searched for downstream genes of the neural inducer Chordin. We have isolated three early neural-specific transcription factors which functions in the

downstream cascade of neural induction. Sox2, is required for neural development in general, including both central and peripheral nervous systems. (2) We systematically screened for genes involved in cell-cell interactions during early neural patterning by using the Signal-Peptide-Selection method. One gene from this screen is a new secreted patterning factor Kielin. During early neurogenesis, Kielin is expressed in the floor plate, which plays a central role in the dorsal-ventral patterning of the developing brain. Roles of Kielin in the CNS are now being investigated. (3) We have established an efficient system to induce neural differentiation of mouse ES cells in vitro. We have screened for activities that promote neural differentiation of ES cells and finally discovered such an activity on several stromal cells. We named this activity SDIA (stromal cell-derived inducing activity). SDIA can efficiently and selectively induce neural precursors and neurons. By using this system, we could induce differentiation of specific types of neurons such as dopaminergic neurons. Production of dopamine neurons may open door to cell transplantation of Parkinson disease.

Dr. Hosokawa's group investigates mechanisms of aging by using hereditary early aging mouse, SAM. As a model for age-associated changes, extensive analyses of genetical, pathological and biochemical aspects were performed on SAM.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Sasai, Y.: (2000) Regulation of neural determination by evolutionally conserved signals: anti-BMP factors and what next? Curr. Opin. in Neurobiol. (in press)
- Kawasaki, H., Mizuseki, K., Nishikawa, S., Kaneko, S., Kuwana, Y., Nakanishi, S., Nishikawa, S.-I. and Sasai, Y.: Induction of midbrain dopaminergic neurons from ES cells by Stromal Cell-Derived Inducing Activity. Neuron 28: 31-4, 2000
- Matsui, M., Mizuseki, K., Nakatani, J., Nakanishi, S. and Sasai, Y.: *Xenopus* Kielin: A novel patterning factor containing multiple Chd-type repeats secreted from the embryonic midline. PNAS 97: 5291-5296, 2000
- Kishi, M., Mizuseki, K., Sasai, N., Yamazaki, H., Shiota, K., Nakanishi, S. and Sasai, Y.: Requirement of Sox2-mediated Signaling for Differentiation of Early *Xenopus* Neuroectoderm. Development 127: 791-800, 2000
- Nakatani, J., Mizuseki, K., Tsuda, H., Nakanishi, S. and Sasai, Y.: *Xenopus* Xenf: An early endodermal nuclear factor that is regulated in a pathway distinct from Sox17 and Mix-related gene pathways Mech. Dev. 91: 81-89, 2000
- M. Umezawa, T. Takeda, K. Kogishi, K. Higuchi, T. Matsushita, J. Wang., T. Chiba, and M. Hosokawa.: Serum lipid concentrations and mean life span are modulated by dietary polyunsaturated fatty acids in the Senescence-Accelerated Mouse. J. Nutrition 130: 221-227, 2000
- M. Ueno, I. Akiguchi, M. Hosokawa, H. Kotani, K. Kanenishi and H. Sakamoto.: Blood-brain barrier

- permeability in the periventricular areas of the normal mouse brain. *Acta Neuropathol.* 99: 385-392, 2000
- T. Nishikawa, J. A. Takahashi, T. Matsushita, K. Ohnishi, K. Higuchi, N. Hashimoto and Hosokawa, M.: Tubular aggregates in the skeletal muscle of the senescence-accelerated mouse; SAM. *Mech. Ageing Dev.* 114: 89-99, 2000
- Y. Okuma, T. Murayama, K. K. Tha, C. Yamada, M. Hosokawa, A. Ishikawa, R. Watanabe, M. Maekawa, and Y. Nomura.: Learning deficiency and alterations in acetylcholine receptors and protein kinase c in the brain of senescence-accelerated mouse (SAM)-P10. *Mech. Ageing Dev.* 114: 191-199, 2000
- T. Onodera, R. Watanabe, K. K. Tha, Y. Hayashi, T. Murayama, Y. Okuma, C. Ono, Y. Oketani, M. Hosokawa and Y. Nomura.: Depressive behavior and Alterations in receptors for dopamine and 5-hydroxytryptamine in the brain of the Senescence accelerated mouse (SAM)-P10, *Jpn. J. Pharmacol.* 83: 312-318, 2000
- M. Hosokawa, H. Fujisawa, S. Ax, G. Zahn-Daimler and R. K. Zahn.: Age-associated DNA damage is accelerated in the Senescence-accelerated mice. *Mech. Ageing Dev.* 118: 61-70, 2000
- Z. J. Guo, E. Toichi, M. Hosono, T. Hosokawa, M. Hosokawa, K. Higuchi and M. Mori.: Genetic analysis of lifespan in hybrid progeny derived from the SAMP1 mouse strain with accelerated senescence. *Mech. Ageing Dev.* 118: 35-44, 2000
- J. Wang, T. Matsushita, K. Kogishi, C. Xia, A. Ohta, T. Chiba, A. Nakamura, H. Kondo, M. Mori, M. Hosokawa and K. Higuchi.: Wild type apoA-II gene does not rescue Senescence-accelerated mouse (SAMP1) from short life span and accelerated mortality. *J. Gerontol.* 55A: B432-439, 2000
- N. Nagai, M. Hosokawa, S. Itohara, E. Adachi, T. Matsushita, N. Hosokawa and K. Nagata.: Embryonic lethality of molecular chaperone HSP47 knockout mice is associated with defects in collagen biosynthesis. *J. Cell Biol.* 150: 1499-1505, 2000
- R. K. Zahn, G. Zahn-Daimler, S. Ax, G. Reifferschedl, P. Waldmann, H. Fujisawa and M. Hosokawa.: DNA damage susceptibility and repair in correlation to calendric age and longevity. *Mech. Ageing Dev.* 119: 101-112, 2000
- M. Shoji, T. Matsushita, K. Higuchi, Y. Honda and M. Hosokawa.: Senile ocular amyloidosis in SAM and BALB/c strains of mice. *Mech. Ageing Dev.* 120: 87-94, 2000
- B. H. Zhu, M. Ueno, T. Matsushita, H. Fujisawa, N. Seriu, T. Nishikawa, Y. Nishimura and M. Hosokawa.: Effects of Aging and Blood Pressure on the Structure of the Thoracic Aorta in SAM Mice: A Model of Age-associated Degenerative Vascular Changes. *Exp. Gerontol* (in press)
- A. Ohta, I. Akiguchi, N. Seriu, K. Ohnishi, H. Yagi, K. Higuchi and M. Hosokawa.: Deterioration in learning and memory of fear conditioning in response to context in aged SAMP8 mice. *Neurobiol. Aging* (in press)

2) 総説、著書

笹井芳樹：脊椎動物の神経分化を始めさせるスイッチ分子群（2000）*実験医学*18, 80-84

細川昌則, 梅沢眞樹子：老化防止機構. a) 老化促進モデルマウスを用いた機能評価. *食品機能研究法*, 光琳出版,

- 篠原和毅, 鈴木建夫, 上野川修一編著, 294-297, 2000
- 細川昌則: 老いのメカニズム. 進化する老い, 進化する社会, アグネ承風社, 遠藤 薫, 山本和高編著, 27-54, 2000
- 細川昌則: 創薬段階での非臨床評価, 第6節モデル動物の利用と評価 — 老化 —, 非臨床試験マニュアル — ICH への対応と新しい試み —, エル・アイ・シー, 野村 護, 堀井郁夫, 吉田武美編, (印刷中)
- 清水基行, 坪山直生, 松下 睦, 笠井宗一郎, 清水慶彦, 樋口京一, 細川昌則, 中村孝志: 老化促進モデルマウス SAM を用いた骨量制御遺伝子座の解析. Osteoporosis Japan 8, 248-250, 2000
- 細川昌則: 老化のメカニズム — 最近の進歩 —. Hormone Frontier in Gynecology 12, 343-348, 2000

◆ 学会等の講演 ◆

- 笹井芳樹: 神経分化の分子制御機構 ヒューマンサイエンス財団シンポジウム (2000.2.21 東京)
- 笹井芳樹: 試験管内神経分化系の再生医学への応用について 第4回遺伝子医療研究会 (2000.2.26 京都)
- 笹井芳樹: 試験管内で神経をつくる 第21回日本炎症学会 (2000.7.4 東京)
- 笹井芳樹: Molecular control of induction and specification of vertebrate nervous system, IUBMB 2000 (2000.7.20 バーミンガム, UK)
- 笹井芳樹: 試験管内神経分化制御とその再生医学的展望 第24回阿蘇シンポジウム (2000.7.28 熊本)
- 笹井芳樹: 未分化胚性細胞からの神経分化制御と再生医学 第117回日本医学会シンポジウム (2000.8.5 箱根)
- 笹井芳樹: 試験管内で神経を作る 第18回日本ヒト細胞学会大会 (2000.8.26, 京都)
- 河崎洋志, 笹井芳樹試: 験管内での神経分化とパターン形成制御 第23回日本神経科学大会 (2000.9.5 横浜)
- 笹井芳樹: 背腹軸の逆転と中枢神経の起源について 第16回京都賞ワークショップ (2000.11.12 京都)
- 笹井芳樹: in vitro neural differentiation and its prospectives for regenerative medicine. JAACT 2000 (2000.11.20 福岡)
- 笹井芳樹: 未分化胚性細胞からの神経分化制御 第16回 WAKO ワークショップ (2000.11.21 千里)
- 細川昌則, 梅澤眞樹子: 食による老化制御 — SAM 系統マウスを用いた実験的研究 —, シンポジウム「食を取り巻く諸問題とその展開」, 日本食品科学工学会第47回大会, (2000.3.29 東京)
- 細川昌則: 老化と老年病のメカニズム — モデルマウスを用いた研究 —, 公開パネルディスカッション「老化と健康保持戦略」, 第70回日本衛生学会総会, (2000.3.30 大阪)
- M. Hosokawa: Hyperoxidation status in the SAMP strains of mice: A possible mechanism of senescence acceleration, Japan-USA Workshop on Mouse and Monkey Models for Study Aging, Cardiovascular Disease and Other Age-related Chronic Disorders, (200.7.4, Kyoto)
- 細川昌則: DNA 傷害と老化促進, シンポジウム「検証 SAM のモデル特性: その3 SAMP1(1)」, 老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会第16回大会, (2000.7.27 京都)
- 細川昌則, 坪山直生, 笠井宗一郎, 松下 睦, 中村孝志, 清水基行, 樋口京一: 老年性骨粗鬆症自然発症モデル; SAMP6 マウスの諸特性, シンポジウム「基礎と臨床をつなぐ疾患モデル動物」, 第17回和漢医薬学会大会, (2000.9.2 名古屋)
- 白瀬智之, 本庄 原, 羽賀博典, 北市正則, 山邊博彦, 細川昌則: 肺の形質細胞腫による肺野の多発性結節性病変の増悪と共に右肺中葉切除術の10年後に神経症状が出現した Crow-Fukase (POEMS) 症候群の1例: 肺病

理所見の検討, 第89回日本病理学会総会, (2000.4.11 大阪)

清水基行, 坪山直生, 松下 睦, 笠井宗一郎, 中村孝志, 細川昌則, 樋口京一: 老化促進モデルマウス (SAM) に関する実験的研究117. SAM を用いた第13染色体骨量制御遺伝子座の解析, 第89回日本病理学会総会, (2000.4.12 大阪)

上野正樹, 阪本晴彦, 細川昌則: SAMP8 の血液脳関門について — 脳内微小血管の超微形態を中心に —, 第89回日本病理学会総会, (2000.4.12 大阪)

細川昌則, 上野正樹, 千葉陽一, 松下隆寿, 西村泰光: 老化促進モデルマウス (SAM) に関する実験的研究118. 老化にともなうミトコンドリアの形態変化について, 第89回日本病理学会総会, (2000.4.12 大阪)

森 政之, 豊國伸哉, 近藤昇平, 十一英子, 細川昌則, 樋口京一: Ogg1 遺伝子の突然変異と SAMP 系マウスの短寿命との関連, 第89回日本病理学会総会, (2000.4.12 大阪)

Xing Yanming, 付 麗, 細川昌則, 亀谷富由樹, 中村明宏, 樋口京一: C type ApoAII amyloid fibril can accelerate amyloidosis in SAMR1 mice, 第89回日本病理学会総会, (2000.4.12 大阪)

小岸久美子, 松下隆寿, 是永龍巳, 細川昌則, 鈴木康弘, 樋口京一: マウス老化アミロイド線維形成修飾因子の解析, 第89回日本病理学会総会, (2000.4.12 大阪)

島田厚良, 細川昌則, 慶野裕美, 芹生直行, 岸川正大: 老化促進モデルマウス SAMP10 の加齢性大脳萎縮に伴うニューロン核内 DNA 断片化の亢進, 第41回日本神経病理学会総会, (2000.6.1 米子)

松下隆寿, 小岸久美子, 細川昌則: 骨髄の脂肪染色について — 四酸化オスミウムを用いて —, 実験病理組織技術研究会第7回総会, (2000.6.9 大阪)

笠井宗一郎, 清水基行, 坪山直生, 松下 睦, 中村孝志, 細川昌則: 測定原理の異なるMD法・DXA法・ μ CT法によるSAMマウスの骨密度評価, 日本基礎老化学会第23回大会, (2000.6.28 大府)

細川昌則, 上野正樹, 千葉陽一, 松下隆寿, 大西克則, 松田園子, 渡辺知子: SAM系統マウスに認められる老化促進にともなうミトコンドリアの形態変化について, 日本基礎老化学会第23回大会, (2000.6.28 大府)

千葉卓哉, 森 政之, 細川昌則, 樋口京一: 遺伝子サブトラクション法をもちいたSAMマウスにおける老化関連病態遺伝子の探索, 日本基礎老化学会第23回大会, (2000.6.28 大府)

清水基行, 樋口京一, 坪山直生, 松下 睦, 笠井宗一郎, 池田容子, 清水慶彦, 中村孝志, 細川昌則: SAM系統マウスを用いた第13染色体骨量制御遺伝子座の解析, 日本基礎老化学会第23回大会, (2000.6.28 大府)

Xing Yanming, 付 麗, 千葉卓哉, 中村明宏, 亀谷富由樹, 細川昌則, 是永龍巳, 樋口京一: C型ApoA-IIはB型ApoA-IIによるアミロイド線維形成を誘導する, 日本基礎老化学会第23回大会, (2000.6.29 大府)

森 政之, 豊國伸哉, 十一英子, 細川昌則, 樋口京一: Ogg1 遺伝子の突然変異はSAMP1系マウスの促進老化・短寿命の原因ではない, 日本基礎老化学会第23回大会, (2000.6.29 大府)

是永龍巳, Xing Yanming, 森 政之, 付 麗, 松下隆寿, 倉本和直, 朱宮正剛, 細川昌則, 樋口京一: ApoA2^a alleleを持つマウスにおける老化アミロイド沈着, 日本基礎老化学会第23回大会, (2000.6.29 大府)

西村寿光, 細川友秀, 細野正道, 小岸久美子, 細川昌則: 老化促進モデルマウス, SAMP1マウス脾臓由来CD4⁺T細胞の早期増殖低下, 日本基礎老化学会第23回大会, (2000.6.30 大府)

清水基行, 坪山直生, 松下 睦, 笠井宗一郎, 中村孝志, 細川昌則, 清水慶彦, 樋口京一: 老化促進モデルマウスSAMを用いた第11染色体骨量制御遺伝子座の解析, 第2回日本骨粗鬆症学会, (2000.10.25 秋田)

西村寿光, 細川友秀, 細野正道, 細川昌則: 老化促進モデルマウス, SAMP1マウスの脾臓由来CD4⁺T細胞の早期増殖低下, 第30回日本免疫学会総会 (2000.11.15 仙台)

再生増殖制御学分野 Department of Growth Regulation

【研究概要】

筋形成は、中胚葉由来の多能性細胞から筋芽細胞が生じ、それが互いに融合して筋管を形成し、さらに神経支配を受けることによって成熟して機能的な筋肉となっていく。私達の分野では、このような筋形成機構を明らかにすること、特に、筋形成やその再生過程に、いったいどのような異種・同種間の細胞間相互作用、あるいは細胞基質間相互作用がはたらいているのか、そしてそれらの認識機構やシグナリングはどのように制御されているのか、を解明したいと考えている。

私達は筋形成機構の研究のなかで、そのような細胞間相互作用の一翼を担いうる遺伝子群メルトリン α 、 β 、 γ をクローニングし、先に、株化筋衛星細胞を用いてメルトリン α が筋形成にかかわることを報告した。これらの遺伝子が属するADAMファミリーはメタロプロテアーゼ、ディスインテグリンドメインを持つ膜タンパク質ファミリーで、現在それらの形態形成における役割が注目されている。私たちは現在、メルトリンのプロテアーゼや接着因子としての機能や、個体レベルでのメルトリンの役割を中心に検討している。メルトリン α に関しても、(1)筋再生過程におけるメルトリン α の活性化 (Bornemann *et al.*), (2)メルトリン α のディスインテグリンの機能解析 (Eto *et al.*), などの研究をおこなってきたが、今回はメルトリン β 遺伝子に関する研究成果を報告する。

目的

筋形成過程における細胞間相互作用のひとつの重要な要素として神経筋接合部の形成がある。神経・筋接合部の形成は、神経細胞の growth cone が筋細胞表面に到達することから始まる。そこで神経から ARIA という可溶性因子が放出され、筋細胞で発現するそのリセプターにシグナルを伝える。すると筋側に変化が誘導され、胎児期に筋細胞の上にまばらに分布していたアセチルコリンリセプターが、クラスターを作りはじめ、そこに機能的なシナプスが構築されていく。私達は、このようなシナプス形成制御の分子機構の解明を目指している。

方法および結果

まず、神経の growth cone が筋細胞表面に到達すると、どのようなメカニズムによって神経から ARIA が放出されるのだろうか。ARIA は、膜タンパク質として合成されるが、それが可溶性分子として活性化・放出される。従って、シナプス形成には、シナプス前神経において膜タンパク質として合成された ARIA が可溶性分子に変換され、放出されるプロセスが、ひとつの重要な鍵を握っていると考えられる。これまで ARIA がどのようにプロセッシングを受けて可溶性分子を産生するか分かっていなかったが、私達は、マウス神経筋接合部のシナプス形成期に運動神経で強い発現が見られ、ARIA のプロセッシング活性を有する膜型プロテアーゼを見つけた。

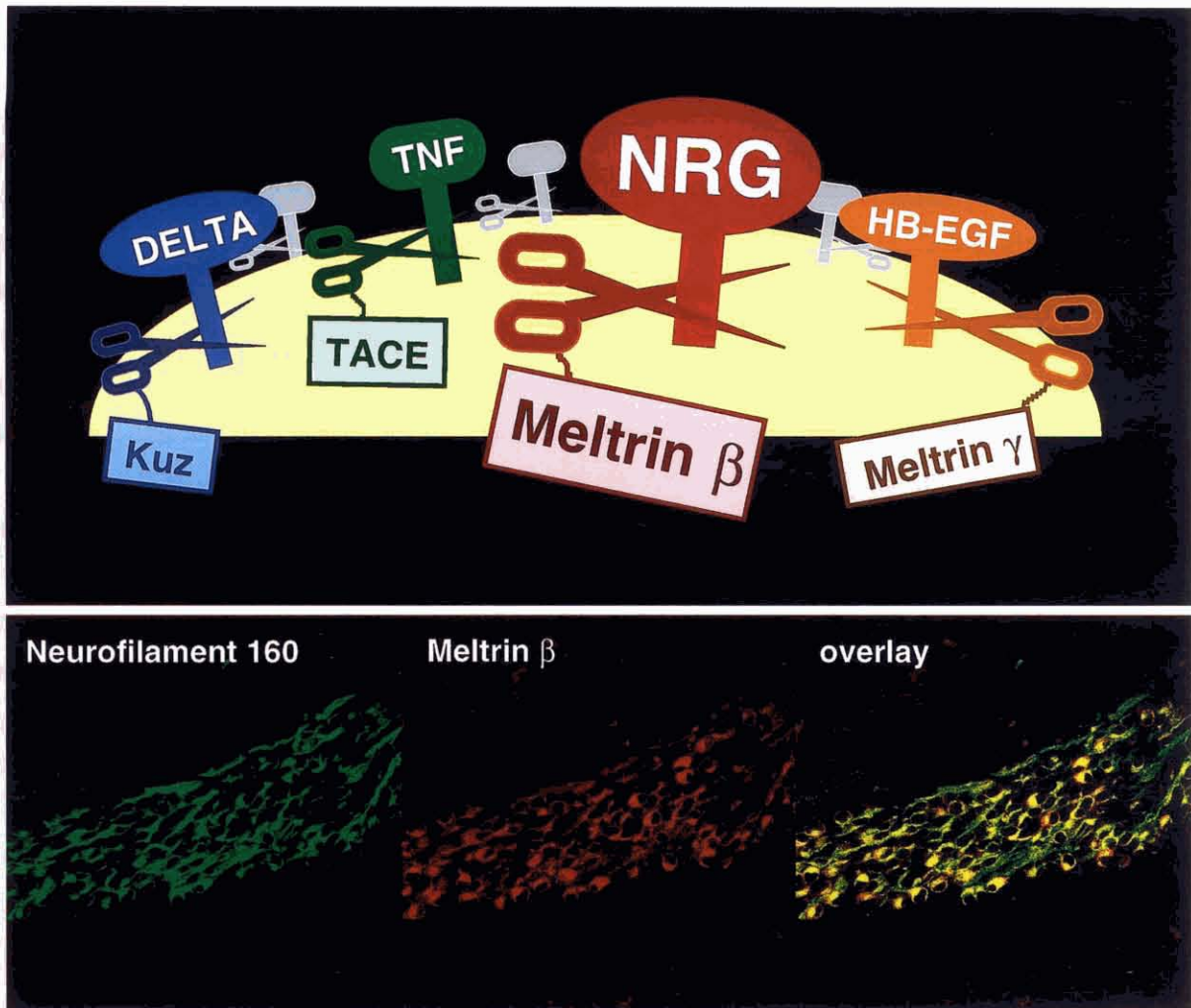
それは私達のグループでクローニングした、メルトリン β という ADAM ファミリーに属する膜貫通型メタロプロテアーゼである。メルトリン β は、組織におけるタンパク質の発現を調べると、胎生中期以降の脳神経・脊髄前角・後根神経節・筋節などで発現がみられること、後根神経節においては、神経細胞において発現していることがわかった。メルトリン β のこのような発現から、これと似た発現パターンを示し筋形成や神経分化に関与することが知られる細胞膜貫通型増殖因子 ARIA/ニューレギュリンが、メルトリン β の基質となりうる可能性が考えられたので検討した。ARIA のプロセッシングは野生型メルトリン β を共発現する事により増強し、プロテアーゼ活性を持たない変異型メルトリン β を共発現することにより抑制された。更に、ARIA とメルトリン β が互いに共沈する事などから、メルトリン β が、ARIA のプロセッシング、すなわち蛋白分解による膜型から可溶化型への変換に直接

的に関わっている事を示唆した (Shirakabe *et al.*).

このような *in vitro* の研究と並行して、メルトリン β が本当に ARIA のプロセッシングに関与しているのか、あるいは神経形成やシナプス形成に関与しているのかを、個体レベルで調べるために、メルトリン β 遺伝子のプロテアーゼ活性部位を含むドメインをノックアウトしたマウスを作成してきた。現在、そのマウスの作成に成功し、解析をすすめている。

今後の展望

脳神経、末梢神経形成能やシナプス形成、筋形成などを中心に解析をおこない、個体レベルの表現型とプロテアーゼの作用を関連づけていく。



マウス12.5日胚の後根神経節におけるメルトリン β 蛋白質の発現。メルトリン β （赤色）は、ニューロフィラメント（緑色）を発現している神経細胞で発現していることがわかる。

Meltrins are members of ADAMs (a disintegrin and metalloproteases), which are a family of membrane-anchored glycoproteins that play important roles in fertilization, myoblast fusion, neurogenesis, and proteolytic processing of several membrane-anchored proteins. This year, we could show that meltrin β participates in the processing of neuregulin-1 (NRG), a member of the epidermal growth factor (EGF) family.

NRGs (also known as acetylcholine receptor inducing activity, ARIA, and glial growth factor, GGF)

mediate an array of biological effects, including the synthesis of acetylcholine receptors in skeletal muscle and the stimulation of Schwann cell growth. These biological effects of NRGs are mediated by the ErbB family of tyrosine kinase receptors. Although alternatively spliced transcripts also generate some secreted isoforms, most soluble NRGs are derived from membrane-anchored precursor proteins via proteolytic cleavage of the extracellular region including EGF-like domain. In the present study, we provided evidence that meltrin β participates in the processing of β -type (neuronal type) NRGs. This is the first report on the function of meltrin β and, at the same time, the first report that indicates the involvement of ADAM metalloproteases in the proteolytic processing of membrane-anchored NRGs.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Shirakabe, K., Wakatsuki, S., Kurisaki, T., and Fujisawa-Sehara, A.: Role of Meltrin β in the processing of neuregulin. *J. Biol. Chem.*, (in press).
- Eto, K., Puzon-McLaughlin, W., Sheppard, D., Fujisawa-Sehara, A., Zhang, X-P., and Takada, Y.: The RGD-independent binding of integrin $\alpha 9 \beta 1$ to the ADAM-12 and -15 disintegrin domains mediates cell-cell interaction. *J. Biol. Chem.*, (in press).
- Bornemann, A., Kuschel, R., and Fujisawa-Sehara, A.: Analysis of transcript expression of meltrin α in normal, regenerating, and denervated rat muscle. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, **21**, 475-480, 2000.
- Kurohara, K., Matsuda, Y., Nagabukuro, A., Tsuji, A., Amagasa, T., and Fujisawa-Sehara, A.: Chromosomal mapping of the meltrin β (ADAM19) gene, cloning and analysis of its regulatory region. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **270**, 522-527, 2000.

2) 総説

- 瀬原淳子：骨格筋形成と再生 — その分子機構を探る。蛋白質核酸酵素「再生医学と生命科学」45巻，234-240，2000.

◆ 学会などの講演 ◆

1) 学会・研究発表

- 瀬原淳子：形態形成の制御と ADAM ファミリー。分子病理学研究会2000年シンポジウム (2000.7.21 長崎)
- 瀬原淳子：形態形成の制御と ADAM ファミリー。第73回生化学会大会 (2000.10.14 横浜)

2) 講演・シンポジウム

- 瀬原淳子：ADAM ファミリーによる形態形成の新しい制御機構。医学生物学研究所主催高遠シンポジウム (2000.8.17 高遠)

瀬原淳子：細胞間相互作用における ADAM ファミリーの役割. 第 3 回岡山県生物科学総合研究所 (RIBS) バイオサイエンス・シンポジウム「細胞間相互作用とシグナル伝達の分子基盤」(2000.11.02 岡山)

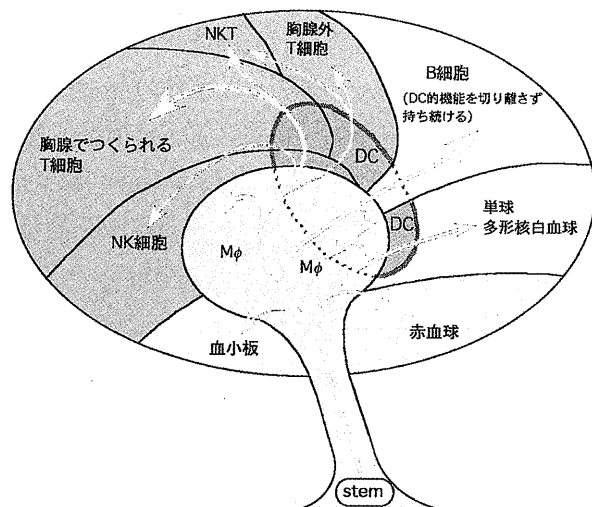
再生免疫学分野 Department of Immunology

【研究概要】

本分野の主要な研究課題は、造血幹細胞から T 細胞への分化機構の解明である。造血幹細胞は T 細胞や B 細胞だけでなく、赤血球やマクロファージも含めてすべての血液系細胞をつくり出すのであるが、幹細胞は先ずそれぞれの系列に特異的な前駆細胞をつくり (コミットメント)、機能的な細胞はそれらの前駆細胞からつくられる。ごく最近に至るまで系列コミットメントの機構は全く不明で、したがって T 細胞をつくるために胸腺へ移行する前駆細胞さえも同定されていなかった。本分野では、T、B およびミエロイド (M) 系列への分化能を解析する方法、すなわち multilineage progenitor (MLP) assay 法を開発し、胸腺へ移行して T 細胞をつくる前駆細胞は T 系列へコミットされたものであることを明らかにした。さらにこの MLP 法によって、従来は赤血球/ミエロイド系列に限定されていた前駆細胞の研究を、T、B リンパ球を含めた領域へと広げること成功した。

マウス胎仔肝臓中の個々の造血前駆細胞の分化能を解析した結果、ミエロイド (M)、T、B 系列へ分化しうるもの (p-MTB)、M、T 系列あるいは M、B 系列の 2 系列系へ分化するもの (p-MT と p-MB) および 1 系列へのみ分化するもの (p-M、p-T および p-B)、合わせて 6 種類の前駆細胞の存在が明らかとなった。この中には、実験的根拠がないままにその存在が予想されていた T、B リンパ球へ分化しうる前駆細胞 (p-TB) は含まれていない。すなわち、T 細胞と B 細胞はそれぞれ独立に、ミエロイド系列を軸として決定・分化するものと考えられた。また、p-TB が存在しないということは、造血のプロセスに対する考え方を根本的に変更することを迫るものである。従来は、多種類の血液細胞への分化は確率的な過程で決まるという考え方が主流であったが、これは成り立たないことになった。造血系においても、他の細胞の発生分化と同じく秩序立った (ordered) 決定の段階を繰り返しつつ分化するものと考えらるべきである。

MLP assay の開発に至った動機は、T 細胞をつくるべく胸腺へ移行する前駆細胞とはどのようなものかという疑問であった。胎生 12 日目のマウス胎仔肝臓中に存在し、T 細胞をつくりうる前駆細胞は p-MTB、p-MT、p-T の 3 種類である。一連の研究によって、血流に乗って胎仔胸腺へ移行し T 細胞を生成するのは p-T だけであることが明らかとなった。胎生 10 日目のマウスの Aorta-Gonads-Mesonephros (AGM) 領域にも胎仔肝臓と同様な前駆細胞が少数ながら存在する。胎生 11 日目までは血液中に少数の p-MTB も検出され、AGM 領域でつくられた幹細胞が血流に乗って移動し



肝臓系へ移行することが示唆された。

MLP 法は、赤白血球系列やナチュラルキラー系列、さらには樹状細胞 (DC) へのコミットメントの研究へも応用できるよう改良することができる。NK 系列と T 系列への分化を同時に解析できるクローナル培養を用いて胸腺内前駆細胞の分化能をしらべると、最も未分化な段階ではすべて T/NK 両系列への分化能を保有しており、T 系列への分化段階が進むにつれて NK 分化能を徐々に切り離して行くことが示された。MLP 法で解析するとことにより、造血系の分化には従来考えられていたようなランダムな系列決定で進むのではなく、秩序立った決定と分化のもとに進行する (ordered lineage restriction) ことが明らかとなった。この発見によって造血のプロセスを図示することが可能となった (前頁の図)。

胸腺内における T 細胞の増殖・分化にはストローマ細胞の関与が不可欠である。にもかかわらずストローマ細胞の役割りは明らかでない。その理由はストローマ依存性の増殖や分化を解析できる *in vitro* の実験系が確立されておらず、したがって適切な研究手段がないことにある。本分野では、BALB/c マウスの胸腺腫からストローマ細胞依存性に増殖するプレ T 細胞株を樹立して、初期 T 細胞の分化と増殖におけるストローマ細胞の役割りと、その分子機構を解析している。これまでの結果から、プレ T 細胞株のストローマ依存性増殖にはヘテロ 3 量体 GTP 結合蛋白 (G α i) が関与しており、これに共役して働く受容体は CXCR4、そのリガンドはケモカイン SDF-1 であることが明らかとなった。T 細胞の増殖における G 蛋白と SDF-1/CXCR4 の関与が明らかになったのは、この研究が初めてである。

造血前駆細胞の分化機構を解明する目的で、マウス胎仔肝臓中の T 前駆細胞にレトロウイルスベクターを用いて遺伝子を導入・発現させて、特定の遺伝子の T 細胞分化に及ぼす作用を調べるシステムを構築した。まず手始めとして、Id2 を導入した。Id2 は 4 種類報告されている Id family の 1 つで、Id1, Id3 は T 細胞、B 細胞の分化に重要な転写因子である E 蛋白の機能を阻害することが分かっている。また、Id2 ノックアウトマウスの成獣では、NK 細胞が大幅に減少していることがすでに報告されていた。われわれの実験結果からも、Id2 を強制発現させるとミエロイド (M) 系列細胞の分化は正常であるものの、T・B 系列細胞の分化がほぼ完全にストップすることが確認された。しかし予想に反して、NK 細胞もほとんど出現してこなかった。さらに、B 系列へのみ分化できる前駆細胞 (p-B) のみならず、M, B 両系列へ分化できる前駆細胞 (p-MB) も分化・増殖できないことが判明した。

The main field of research in this department concerns the development of T cells from hematopoietic stem cells. An experimental system to examine the developmental capability of individual hematopoietic progenitors to generate T, B and myeloid (M) cells has been established in our department. By using this system, named multilineage progenitor (MLP) assay, we are investigating the process of lineage commitment of hematopoietic progenitors. Previously, the first step of the commitment of the stem cell has been thought to be the split between erythro-myeloid (E/M) and lymphoid (T/B) lineages. Studies in this department elucidated that T and B cell lineage committed progenitors (p-T and p-B, respectively) are produced through a completely different path way. p-T, p-B and myeloid progenitor (p-M) were found to be generated from multipotent progenitors through bipotent p-MT and p-MB stages.

Our current study concerns the isolation and characterization of p-T. It is found that a large majority of thymic as well as prethymic p-T are bipotent to generate T and NK cells. We found that the earliest thymic progenitors are expanded by 100-1000-fold before T cell receptor (TCR) β -chain rearrangement. This proliferation represents an essential process for clonal diversification of TCR β chains. Our project include

also the role of thymic environment for differentiation and growth of T cells as well as the mechanism of T cell receptor gene rearrangement.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- H. Kawamoto, T. Ikawa, K. Ohmura, S. Fujimoto, and Y. Katsura: T cell progenitors emerge earlier than B cell progenitors in the murine fetal liver. *Immunity* 12: 441-450, 2000
- T. Kina, K. Ikuta, E. Takayama, K. Wada, A. S. Majumdar, I. L. Weissman, and Y. Katsura: The monoclonal antibody TER-119 recognizes a molecule associated with glycophorin A and specifically marks the late stages of murine erythroid lineage. *British J. Haematol.* 109: 280-287, 2000.
- C. Shimizu, H. Kawamoto, M. Yamashita, M. Kimura, E. Kondou, Y. Kaneko, S. Okada, T. Tokuhisa, M. Yokoyama, M. Taniguchi, Y. Katsura, and T. Nakayama: Progression of T cell lineage restriction in the earliest subpopulation of murine adult thymus visualized by the expression of lck proximal promoter activity. *Int. Immunol.* 13: 105-117, 2001.
- T. Ikawa, S. Fujimoto, H. Kawamoto, Y. Katsura, and Y. Yokota: Commitment to natural killer cells requires the helix-loop-helix inhibitor Id2. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* (in press).

2) 著書および総説

- W. van Ewijk, H. Kawamoto, W. T. V. Germeraad, and Y. Katsura: Developing thymocytes organize thymic microenvironments. *Lymphoid Organogenesis*. F. Melchers ed. Springer, p.125-132, 2000
- Y. Katsura, and H. Kawamoto: Stepwise lineage restriction of progenitors in lympho-myelopoiesis. *Int. Rev. Immunol.* in press.
- 河本 宏, 桂 義元: 血液・リンパ系を対象とする再生医療. *BIO INDUSTRY*, 17(2): 42-49, 2000
- 桂 義元, 河本 宏: T細胞レパトア形成に必要な2段階の増殖. *組織培養工学*, 26(3): 19-23, 2000
- 伊川友活, 河本 宏, 桂 義元: T/NK 共通の前駆細胞からT細胞あるいはNK細胞への系列決定. *臨床免疫*, 33(3): 282-289, 2000
- 桂 義元, 河本 宏: 造血幹細胞/前駆細胞の分化能. *組織培養工学*, 26(8): 15-19, 2000
- 河本 宏, 桂 義元: dendritic cell の分化と origin. *分子呼吸器病*, 4(4): 5-10, 2000
- 河本 宏, 桂 義元: T細胞系列を含む造血における分化決定に関する考察. *臨床免疫*, 35(1): 65-75, 2000
- 桂 義元, 河本 宏: 造血における系列決定と初期分化の機序. *今日の移植*, 13(4): 337-342, 2000
- 河本 宏, 桂 義元: リンパ系前駆細胞. *応用サイトメトリー*, p. 52-56, 2000
- 河本 宏, 桂 義元: 樹状細胞サブセットの分化と起源. *細胞工学*, 19(9): 1289-1303, 2000
- 河本 宏, 桂 義元: T細胞分化と関連分子. *実験医学別冊 Bio Science 新用語ライブラリー (免疫 第2版)* p. 48-49, 2000
- 河本 宏, 桂 義元: 造血幹細胞からのリンパ球分化. *週間「医学のあゆみ」* 194: 1057-1064, 2000

3) 学会・研究会記録・報告書

桂 義元：造血幹細胞からT細胞生成にいたるまでの系列決定と増殖のプロセス. 文部省科学研究費補助金特定領域研究平成11年度研究成果報告書. 2000.3.

桂 義元：免疫病の分子機構とその修復. 文部省科学研究費補助金特定領域研究(A)(1)研究報告書. 2000.8

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会・発表

T. Ikawa, H. Kawamoto, and Y. Katsura: Commitment of common T/NK progenitors to unipotent T and NK progenitors in the murine fetal thymus revealed by a single progenitor assay. ThymOz III (An International Workshop on T lymphocytes) (2000. 4. 12. Heron Island, Australia)

H. Kawamoto, T. Ikawa, and Y. Katsura: T cell progenitors emerge earlier than B cell progenitors in the murine fetal liver. ThymOz III (An International Workshop on T lymphocytes) (2000. 4. 12. Heron Island, Australia)

河本 宏, 桂 義元: TCR β 鎖の多様性獲得のための前駆細胞の増殖. 細胞療法研究会 (2000.4.28. 京都)

河本 宏, 勝部好裕, 桂 義元: 胎仔肝臓における赤血球およびミエロイド系前駆細胞の細胞表面マーカーによる分画. 第7回近畿臍帯血幹細胞移植研究会 (2000.5.13. 大阪)

桂 義元: T細胞レパトリア形成の機構. 第9回日本生体防御学会懇親セミナー (2000.6.30. 鎌倉)

河本 宏, 沈 恵卿, 桂 義元: 胸腺中のT/NK/樹状細胞の共通前駆細胞. 第37回補体シンポジウム・第11回日本生体防御学会合同学術集会 (2000.8.25. 大阪)

伊川友活, 河本 宏, 桂 義元: 胸腺内におけるT/NK 共通前駆細胞 (p-T/NK) の同定とそのTおよびNK系列へのコミットメントのプロセス. 第37回補体シンポジウム・第11回日本生体防御学会合同学術集会 (2000.8.25. 大阪)

河本 宏, 桂 義元: 造血幹細胞からT, B, ミエロイドおよびエリスロイド系列への決定のプロセス. 第73回日本生化学会大会シンポジウム (2000.10.14. 横浜)

勝部好裕, 陸 敏, 伊川友活, 桂 義元, 河本 宏: 幹細胞から myelo-erythroid 系列および myelo-lymphoid 系列への分岐. 第30回日本免疫学会学術集会 (2000.11.14. 仙台)

藤本真慈, 小林昌玄, 横田義史, 桂 義元: helix-loop-helix 因子 Id2 を過剰発現している造血前駆細胞の分化. 第30回日本免疫学会学術集会 (2000.11.14. 仙台)

沈 恵卿, 伊川友活, 河本 宏, 桂 義元: 胸腺中に存在するT/NK/樹状細胞系列に共通の前駆細胞. 第30回日本免疫学会学術集会 (2000.11.15. 仙台)

喜納辰夫, 栄川 健, 長澤丘司, 桂 義元: ストローマ細胞依存性プレT細胞株の増殖におけるSDF-1の役割. 第30回日本免疫学会学術集会 (2000.11.15. 仙台)

栄川 健, 川端健二, 河本 宏, 天田 啓, 岡本里香, 桂 義元, 長澤丘司: Commitment 直後のB前駆細胞におけるSDF-1/PBSFの機能の解析. 第30回日本免疫学会学術集会 (2000.11.15. 仙台)

清水千織, 河本 宏, 桂 義元, 谷口 克, 中山俊憲: lck proximal promoter 活性の発現とT細胞系列へのコミットメント. 第30回日本免疫学会学術集会 (2000.11.16. 仙台)

河本 宏, 藤本真慈, 伊川友活, 桂 義元: $\alpha\beta$ T細胞と $\gamma\delta$ T細胞系列への決定. 第30回日本免疫学会学術集会

(2000.11.16. 仙台)

陸 敏, 河本 宏, 藤本真慈, 伊川友活, 勝部好裕, 桂 義元: Adult thymus 中の T 前駆細胞の分化増殖能.
第30回日本免疫学会学術集会 (2000.11.16. 仙台)

伊川友活, 河本 宏, 藤本真慈, 桂 義元: 胸腺前駆細胞の NK 系列への分岐と T 前駆細胞の TCR β 鎖遺伝子再
構成前増殖能. 第30回日本免疫学会学術集会 (2000.11.16. 仙台)

藤本真慈, 柿沼志津子, 島田義也, 河本 宏, 桂 義元: 放射線誘発マウス胸腺リンパ腫における TCR β 鎖遺伝
子の再構成. 第23回日本分子生物学会年会 (2000.12.16. 神戸)

2) 講演

桂 義元: 造血のプロセスと T 細胞の分化. 三重大学医学部 (2000.3.3. 三重)

桂 義元: 血液系細胞の分化. 明治鍼灸大学 (2000.10.27 京都)

生体システム医工学研究部門

医用システム工学分野

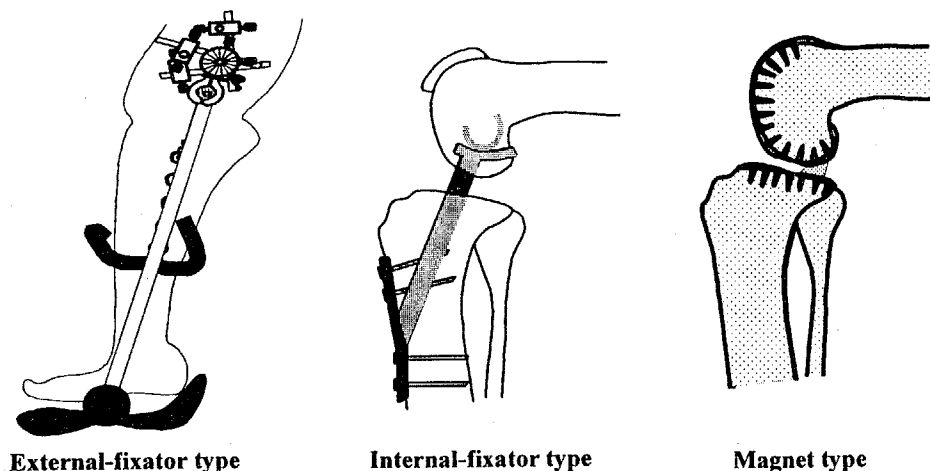
Department of Medical System Engineering

【研究概要】

本研究分野の目的は、信頼性の高い医工学治療法を開発するために医学と工学が融合した研究開発、評価システムを構築することである。例えば、単純化された基礎実験は実験系としての信頼性は高くとも、臨床における複雑な状況を再現していなければ実用化されたときの信頼性を保証することができない。“Clinically relevant”な研究を実践するために本分野では医師、エンジニア、獣医師、薬剤師、企業研究者等を交えて集学的な開発研究を行っている。

2000年度研究の特徴は共同研究の幅の広がりであった。人工再生関節（Total Joint Regeneration）の開発研究では国立大阪南病院の脇谷滋之医師のご指導によって研究室に軟骨再生技術が導入された。また、農林水産省蚕糸昆虫農業技術研究所の玉田靖研究員や企業との共同研究によって各種生体材料の軟骨再生用担体としての機能評価及び開発を行っている。これらの軟骨再生技術と人工関節関連の技術との融合によって、現在、インプラント型、創外固定型、及びマグネット型の3種類の Total Joint Regeneration System の開発研究が進行している。またそれらの技術の基礎基盤として、軟骨再生に及ぼす各種力学刺激の影響を *in vivo* 及び *in vitro* にて検討している。さらに、Total Joint Regeneration System では軟骨のみならず、半月板、靱帯などの再生も視野に含めている。特に半月板の再生実験では生体機械工学分野（池内研）との共同研究にて力学的機能の再建を目指している。

その他、ピエゾ効果を考慮したヘリカル構造を有するポリ乳酸繊維、ヒアルロン酸を含浸させた乳酸-カプロラクトン共重合多孔質癒着防止膜、等の疑似臨床評価を行っている。



全関節再生技術（Total Knee Regeneration）の3基本形（N. TOMIYA, 1998）

This department develop and evaluates the performances of clinically applicable biomaterials by the

methods simulating each of the clinical applications. The present subjects of study are as follows.

- 1: "Total Joint Regeneration" System
- 2: Human Interface for Child and Handicapped person
- 3: Mechanical Designing for Artificial Knee Joint
- 4: Anti-adhesive Material and Biomechanics of Hand
- 5: Fatigue and Wear Properties of UHMWPE Joint Component
- 6: Artificial Ligament (measuring fixation performance of biomaterials)
(bioabsorbable fixation devices)
- 7: Effects of Magnetic Field on Tissue
- 8: Handling Characteristics of Medical Devices
- 9: Sports Biomechanics
- 10: Implantable Mechanical Sensors
- 11: Surface Lubrication for Biomaterial

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- S. Hiraoka, N. Tomita, M. Ishimura, Y. Ikada, and S. Tamai: Fixation strength of polylactic-acid thread in cortical bone Biomedical Materials Research in Asia (IV): 130-131. 2000
- R. Ohata, N. Tomita, S. Xu, and Y. Ikada: Preparation of osteoporosis-model with high reproducibility Biomedical Materials Research in Asia (IV): 140-141. 2000
- K. Hattori, N. Tomita, S. Tamai, and Y. Ikada: Bioabsorbable thread for tight tying of bones, J. Orthop. Sci. 5: 57-63. 2000
- Y. Mu, T. Kobayashi, M. Sumita, A. Yamamoto, T. Hanawa: Metal ion release from titanium with active oxygen species generated by rat macrophages in vitro J. Biomed. Mater. Res., 49: 238-243. 2000
- Ying MU: The mechanism of titanium release from its implant in vitro and/or in vivo J. Jpn. Soc. Biomater. 18(5): 16-22. 2000
- 富田直秀：人工膝関節用ポリエチレンの耐久性，次々世代人工膝関節の提案（特集：TKAの手術成績を向上させるポイント）関節外科：基礎と臨床，19(8)：75-82，2000
- 森原 努，工藤治義，富田直秀：ポリフッ化ビニリデン（PVDF）製モノフィラメント縫合糸の力学的性質と操作性，生体材料，18(4)：173-178，2000
- 服部耕治，富田直秀：骨固定材料の展望——新たな全周性締結固定材料の開発について——，生体材料，Vol. 18(2)：101-106，2000
- 小泉宗久，玉井 進，富田直秀，大西啓靖：人工膝関節用ポリエチレンに生じた疲労破壊，日本臨床バイオメカニクス学会誌，21：311-313，2000
- 柴田延幸，富田直秀，池内 健：UHMWPE内におけるき裂のシミュレーション（第1報：粒界の影響）日本臨

- 床バイオメカニクス学会誌, 21:323-327, 2000
- 服部耕治, 玉井 進, 富田直秀: 骨粗鬆化の進行した骨折に対する新しい海綿骨用スクリューの開発, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21:2000
- 原田恭治, 富田直秀, 岡 正典: 高速荷重下での関節軟骨の破壊に関する研究 (第1報) 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21:427-431, 2000
- 関戸 宏, 迫田秀行, 長澤貴司, 寺田宏平, 富田直秀, 池内 健: 多点変位計測システムによる半月の力学的機能に関する研究, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21:183-186, 2000
- 藤村健治, 富田直秀, 岩田博夫, 筏 義人, 山内康治: 乳酸カプラクトン共重合体多孔質膜の屈筋腱癒着防止効果に関する研究, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21:355-359, 2000
- 日吉信之, 石本佳之, 玉井 進, 富田直秀, 御守直樹, 山本浩司: Vitamin E 添加 UHMWPE の生体内における力学的特性変化, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21:361-364, 2000
- 御守直樹, 富田直秀, 山本浩司, 青山栄一: UHMWPE の内部クラックに及ぼす摺動軌跡の影響 (第2報) 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21:315-318, 2000
- 藤村健治, 富田直秀, 岩田博夫, 山内康治, 筏 義人: 乳酸カプロラクトン共重合体多孔質膜の屈筋腱癒着防止効果, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21:355-359, 2000

2) 著書及び総説

- 富田直秀: 骨吸収, 金属系バイオマテリアルの基礎と応用, 347-355, 2000
- 富田直秀 (共同執筆): バイオメティックスハンドブック, エヌ・ティー・エス, 2000
- 富田直秀 (共同執筆): 実用プラスチック材料活用事典, 産業調査会, 2000 (発刊予定)
- 富田直秀: 可動性脛骨インサート TKA の力学的問題点, 骨・関節・靱帯, 13(12), 2000

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

- 山本浩司, 御守直樹, 富田直秀, 青山栄一: 人工膝関節用超高分子量ポリエチレン内でのクラックの進展に関する研究. 第20回バイオトライボロジシンポジウム (2000.3.11 京都)
- 山本浩司, 富田直秀, 御守直樹, 青山栄一: ビタミンE添加超高分子量ポリエチレンの耐疲労特性と生体内変化. 日本機械学会関西支部第75回定期総会講演会 (2000.3.16 草津)
- Y. Mu, T. Kobayashi, M. Sumita, A. Yamamoto, T. Hanawa and N. Tomita: Metal Ion Release from Titanium with Active Oxygen Species Generated by Rat Macrophages in vitro. Sixth World Biomaterials Congress (2000.5.15-20 Kamuela, Hawaii)
- Y. Mu T. Kobayashi, M. Sumita, K. Tsuji, T. Hanawa and N. Tomita: Titanium Release from Plate and Screws Implanted in the Rabbit. Sixth World Biomaterials Congress (2000.5.15-20 Kamuela, Hawaii)
- N. Tomita, M. Koizumi, and Y. Ikada: A microscopic study on the retrieved polyethylene of joint replacement. Sixth World Biomaterials Congress (2000.5.15-20 Kamuela, Hawaii)
- N. Tomita, N. Hiyoshi, Y. Ishimoto, N. Onmori, Y. Ikada, E Aoyama, S. Tamai Mechanical performance of Vitamin E added UHMWPE Joint Components. Sixth World Biomaterials Congress (2000.5.15-20

Kamuela, Hawaii)

S. Hiraoka, N. Tomita, M. Ishimura, Y. Ikada, S. Tamai: Fixation Strength of Poly (lactic acid) Thread. Sixth World Biomaterials Congress (2000.5.15-20 Kamuela, Hawaii)

Y. Harada, N. Tomita, R. Ohata, M. Oka: Designing Devices for Setting Mechanical Condition on Regenerating Cartilage Tissue (Preliminary Report). Sixth World Biomaterials Congress (2000.5.15-20 Kamuela, Hawaii)

N. Onmori, N. Tomita, K. Yamamoto, E. Aoyama: Effect of sliding locus on fatigue cracks in UHMWPE joint component. Sixth World Biomaterials Congress (2000.5.15-20 Kamuela, Hawaii)

加藤功二, 富田直秀, 御守直樹, 柴田延幸, 青山栄一: 人工膝関節用超高分子ポリエチレンのデラミネーション破壊におよぼす諸因子の影響. 日本材料学会第49期通常総会・学術講演会 (2000.5.17 札幌)

富田直秀, 原田恭治, 勝呂 徹, 青木秀之, 脇谷滋之: Total Knee Regeneration による新しい関節症治療法の模索 (第1報). 第6回日本関節症研究会 (2000.6.9 佐賀)

富田直秀, 御守直樹, 柴田延幸, 青山栄一: ビタミンE添加による人工膝関節用超高分子量ポリエチレンのデラミネーション破壊抑制. 第44回日本学術会議材料研究連合講演会 (2000.9.13-14 京都)

原田恭治, 富田直秀: 全関節再生のための力学環境設計. 第38回人工臓器学会 (2000.9.27-29 四日市)

原田恭治, 青木秀之, 富田直秀: 関節軟骨の再生に及ぼす力学刺激の影響. 第130回日本獣医学会学術集会 (2000.10.7-9 大阪)

原田恭治, 富田直秀, 青木秀之, 岡 正典: 関節軟骨の再生と運動刺激に関する研究. 日本機械学会第11回バイオエンジニアリング学術講演会・秋季セミナー (2000.10.20-21 新潟)

加藤功二, 富田直秀, 御守直樹, 柴田延幸, 青山栄一: 人工膝関節用 UHMWPE の粒界にみられる変形の観察. 日本機械学会第11回バイオエンジニアリング学術講演会・秋季セミナー (2000.10.20-21 新潟)

N. Onmori, N. Tomita, K. Kato, E. Aoyama: Mechanism for delamination destruction of ultra high molecular weight Polyethylene joint component. The 21th Biotribology Symposium (2000.10.28 福岡)

服部耕治, 吉川隆章, 高倉義典, 富田直秀, 青木秀之, 原田恭治, 脇谷滋之: 骨髄間質細胞/コラーゲンスポンジ複合による人工骨膜作製の試み. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム (2000.11.7-8 横浜)

大幡里絵, 富田直秀, 筏 義人: 多孔質膜中イオン透過に対する静磁場の影響. 第4回新磁気科学シンポジウム (2000.11.13-15 大宮)

S. Xu, N. Tomita, R. Ohata, Q. Yan and Y. Ikada: Static magnetic field effects on bone formation of rats with an ischemic bone model. 第4回新磁気科学シンポジウム (2000.11.13-15 大宮)

Y. Mu, Nohide Tomita T. Kobayashi, M. Sumita, K. Tsuji, T. Hanawa and N. Tomita: Titanium Release from Plate and Screws Implanted in the Rabbit. The 5th International Symposium on Tissue Engineering for Therapeutic Use (2000.11.16-17 つくば)

服部耕治, 吉川隆章, 高倉義典, 富田直秀, 青木秀之, 原田恭治, 脇谷滋之: 骨髄間質細胞/コラーゲンスポンジ複合による人工骨膜作製の試み. Bionic Design Workshop (2000.11.16-17 つくば)

原田恭治, 富田直秀, 青木秀之, 岡 正典: 関節軟骨の再生と破壊に関する研究 (第一報). 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17 つくば)

御守直樹, 富田直秀, 加藤功二, 柴田延幸, 青山栄一: 人工膝関節用超高分子量ポリエチレンのデラミネーション破壊における粒界の変形. 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17 つくば)

K. Ikeuchi, T. Nagasawa, K. Terada and N. Tomita: Mechanical Functions of Knee Menisci Under Transverse Forces. 10th International Conference on BIOMEDICAL ENGINEERING (2000.12.6-9 Singapore)

原田恭治: 関節軟骨の再生におよぼす力学刺激の影響について. 横浜-京都バイオメカニクスカンファレンス2000. (2000.12.22)

2) 講演・シンポジウム等

富田直秀: 人工膝関節の耐久性. 第1回アジア・太平洋膝関節学会/第1回日本膝関節学会学術集会 (2000.2.18 東京)

N. TOMITA: Materials and shape designing for a new total knee replacement (TKR) System Y2K ROC-Japan Joint Workshop on Biomaterials and Controlled Release (2000.3.1-2 台湾)

N. TOMITA: Measuring mechanical performances of biomaterials Y2K ROC-Japan Joint Symposium on Biomaterials and Controlled Release (2000.3.1-2 台湾)

富田直秀: TKA デザインと関節可動域獲得. 第73回日本整形外科学会学術集会 (2000.4.6-9 神戸)

富田直秀: 医療工学の変遷とトライボロジー. 第22回先端技術講演会 (2000.11.14)

富田直秀: Total Joint Regeneration の試み. 横浜-京都バイオメカニクスカンファレンス2000 (2000.12.22)

生体機械工学分野

Department of Biomechanical Engineering

【研究概要】

医学の最終目的は病気を治療することではなく、本来の生活の質 (QOL) を再生させることである。本分野では機械工学、生体力学を医療に応用して細胞、組織、器官における機能の再生とその評価に関する研究を行っている。1999年における研究内容は次の通りである。

1. セラミック/セラミック人工関節のトライボロジー

セラミック同士を組み合わせる人工関節のトライボロジー特性と設計法の研究を行っている。総セラミック人工関節は、耐久性が高いだけでなく生体反応が生じないので再置換が必要となることが少ない。すでに臨床応用されているアルミナに加えて炭化珪素が次世代の人工関節に用い得ることを見だし、加工精度、表面あらさ、環境の摩耗に及ぼす影響を調べた。

2. 膝半月板の機能の解明と再生

軟組織の変位を精密に計測するために二種類のプローブを開発した。膝関節に関節荷重に加えて外力が加わる時の半月板の変位を計測して力学機能を調べ、損傷したり切除された半月板の機能を再生させる方法を追求した。

3. 低侵襲医療機器の開発研究

消化管の内部の粘液を利用して、周囲の組織と接触すること無く内視鏡、カテーテル、体内ロボットを推進さ

せる技術を開発し、イヌの消化管の内部で移動させることに成功した。また外部からの磁力によって曲がった血管内でカテーテルを誘導する技術を開発した。

4. 福祉介護機器の開発

高齢者を含む障害者の介護のために患者と介護者の QOL を向上させる省力介護機器が求められている。寝たきり患者のシーツを簡単に交換できる機械を開発し、入浴とシャワーへの応用を試みた。

5. 超音波による生体物性の計測

超音波の反射波をフーリエ変換して多層組織の物性と結合状態の 3 次元分布を調べた。

6. ステントの力学特性

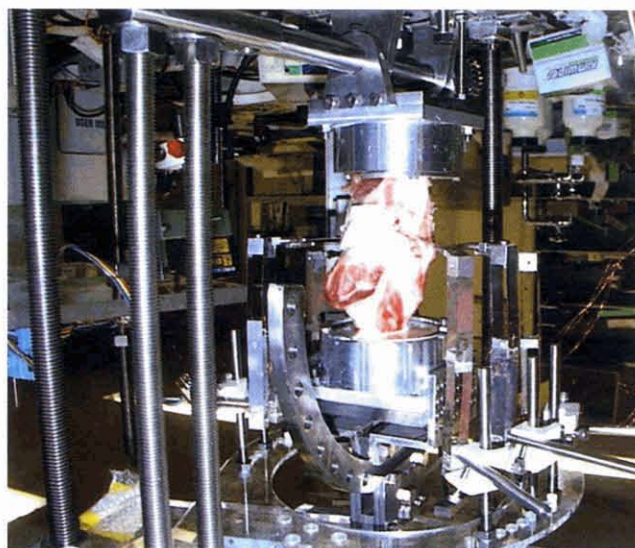
心臓冠動脈、頸動脈の治療後に挿入するステントの力学特性は再狭窄の発生率に影響する。そこでステントの変形特性を有限要素解析と実測によって解明し、血管内皮細胞の増殖を抑制して再狭窄を防ぐ力学特性とそれに基づく設計法を明らかにした。

7. 機械刺激に対する骨芽細胞の応答

機械刺激によって細胞の形態、物性、機能が変化する。培養中の骨芽細胞に流体による周期的な圧力とせん断応力を加えた後に分析することによってその変化を調べた。

・歯科口腔機能の再生のための補綴物製作システムに関する研究

高齢化等による歯科口腔機能の損傷および低下の再生に用いられる補綴材料は生体親和性の良い材質のものが用いられるが、その加工法はしばしば困難であることがある。そこで、このような材料の加工法を追求し、生物学的適合性、力学的適合性および形態的適合性に優れた歯科補綴物の製作システムについて研究している。



膝半月板の力学機能実験装置

The research activities of the Department of Biomechanical Engineering in 1999 are summarized as follows:

1. Tribology in ceramic/ceramic joint prostheses

Friction and wear were measured for alumina, zirconia, silicon nitride and silicon carbide ceramics sliding in water solutions. It was found that alumina and silicon carbide can be applied to all ceramic prostheses for permanent replacement because of their excellent wear resistant abilities.

2. Investigation and reproduction of function of knee menisci

A new method for accurate measurement of soft tissue displacement was proposed, and it was applied to measure displacement of the knee menisci. It was found that the menisci stabilize knee motion under external forces. Several methods are tried to reproduce mechanical functions of damaged or resected meniscus.

3. Development of low invasive medical devices

A new technology of hydrodynamic propulsion of medical devices was developed. A micro-robot was driven in a canine gut without contacting surrounding tissues by use of mucus.

4. Development of instruments for disabled people

A bed sheets exchanger for lying patients was developed and applied to laborsaving cares in bathing and showering for disabled people.

5. Ultrasonic measurement of tissues

3-dimensional distribution of the mechanical properties of layered tissues was measured by ultrasonic method and analysis with Fourier transformation.

6. Mechanical properties of vascular stents

Finite element analysis was performed as well as measurement for coronary stents. Methodology to design coronary stents to prevent restenosis was settled.

7. Investigation of cell change in response to mechanical stimuli

Periodic pressure and shear stress were applied to cultured osteoblasts with a stationary disc or a stepped rotating disc keeping noncontacting condition between the disc and the cells. By means of comparative analysis of the cells before and after the stimulation, the effects of mechanical stimuli on shape, properties and function of the cells were investigated.

• Development of materials processing systems for dental prostheses

Materials processing systems, especially for metal materials, in a dental field are investigated. The purpose of this study is to reproduce the oral function by establishing production systems of dental prostheses which have excellent biological-, mechanical- and morphological-compatibility.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Y. Fukuda, S. Takai, N. Yoshino, K. Murase, S. Tsutsumi, K. Ikeuchi, Y. Hirasawa: Impact load transmission of the knee joint-influence of leg alignment and the role of meniscus and articular cartilage. Clinical Biomechanics 15: 516-521, 2000

M. Oka, K. Ushio, P. Kumar, K. Ikeuchi, S. H. Hyon, T. Nakamura and H. Fujita: Development of artificial articular cartilage. Proc Instn Mech Engrs 214(H): 59-68, 2000

池内 健, 葭仲 潔, 森 浩二: 介護用シーツ交換機の開発に関する研究. 日本機械学会論文集 (C編) 66(647): 2326-2330, 2000

上野 勝, 馬淵清資, 池内 健: セラミック同士を組み合わせた人工股関節の Clearance と潤滑特性. 日本臨床バイオメカニクス学会誌 21: 107-110, 2000

石川泰成, 笹田 直, 池内 健: ハイドロゲルを被覆したポリエチレン頭骨の摩擦特性 — 第2報 —, 日本臨床バイオメカニクス学会誌 21: 117-120, 2000

関戸 宏, 迫田秀行, 長澤貴司, 寺田宏平, 富田直秀, 池内 健: 多点変位計測システムによる半月の力学的機能に関する研究. 日本臨床バイオメカニクス学会誌 21: 183-186, 2000

福田幸久, 高井信朗, 平澤泰介, 吉野信之, 池内 健, 吉田宏昭, 堤 定美, 村瀬晃平: 膝関節の衝撃伝達機構に

関する力学的研究（第2報）——二次元有限要素法を用いて——，日本臨床バイオメカニクス学会誌 21：205-210，2000

柴田延幸，富田直秀，池内 健：UHMWPE 内におけるき裂のシミュレーション——第一報：粒界の影響——，日本臨床バイオメカニクス学会誌 21：323-327，2000

森 浩二，池内 健，光藤和明：ステントの構造が曲げ剛性におよぼす影響，日本臨床バイオメカニクス学会誌 21：343-348，2000

森 浩二，池内 健，光藤和明：ステントの血管形状適合性に関する研究，日本臨床バイオメカニクス学会誌 21：349-354，2000

渡辺雄祐，岡 正典，池内 健，速水 尚，P. KUMAR，中村孝志，牛尾一康，内田恵美子，坂口一彦：関節軟骨最表層の構造と潤滑，日本臨床バイオメカニクス学会誌 21：439-444，2000

2) 著書および総説

都賀谷紀宏，堤 定美：最新歯科材料および技術・器械，(株)シーエムシー，長谷川二郎編，2000年

都賀谷紀宏，篠崎照泰：歯科技工料域でのレーザー溶接の応用——現状と展望——，歯科技工，28(1)，55-56，2000

篠崎照泰，都賀谷紀宏，末瀬一彦：歯科レーザー溶接，日本歯技，369号，1-8，2000

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

都賀谷紀宏：歯科領域におけるレーザー溶接技術の応用——現状と展望——（特別講演），第13回日本歯科チタン学会（2000.2.19-20 横浜）

世本敏高，葭仲 潔，池内 健：消化管内における医用機器挿入特性の測定，第20回バイオトライボロジシンポジウム（2000.3.11 京都）

上野 勝，馬淵清資，池内 健：アルミナ同士を組み合わせた人工股関節の流体潤滑特性，第20回バイオトライボロジシンポジウム（2000.3.11 京都）

吉田秀幸，日下 純，池内 健：セラミックの摩耗に及ぼす滑り方向変化の影響，第20回バイオトライボロジシンポジウム（2000.3.11 京都）

日下 純，吉田秀幸，池内 健：セラミックス摺動材を用いる人工関節のトライボロジー，関西支部第75期定時総会講演会（2000.3.16-17 草津）

世本敏高，葭仲 潔，池内 健：消化管内における医用機器挿入特性の測定，関西支部第75期定時総会講演会（2000.3.16-17 草津）

K. Yoshinaka, T. Semoto, K. Ikeuchi: Directional control in apoint of catheter by magnetic field 9th MAGDA confarence (2000.3.20-21 Brisbane)

K. Ikeuchi: Tribology in Human Joints Proc. 31th KSTLE Spring Meeting (2000.6.8-9 ソウル，韓国)

K. Ikeuchi, H. Sekido, T. Nagasawa, K. Terada, N. Tomita: Displacement of the knee menisci associated with the mechanical function 12th Conference of the European Society of Biomechanics (2000.8.28-30 Dublin, Ireland)

秦野博司, 有井貴彦, 村西実智浩, 宮崎照朗, 小寺邦明, 大森三生, 都賀谷紀宏: 純金属を用いたレーザー溶接に関する研究(Ⅱ) 溶融池表面および溶け込み形状の観察, 日本歯科技工学会第22回学術大会 (2000.9.16-17 静岡)

都賀谷紀宏, 篠崎照泰, 末瀬一彦: 歯科領域におけるレーザー溶接の応用(第3報) 溶接強度測定用試料の形状について, 第36回日本歯科理工学会学術講演会 (2000.10.14-15 岡山)

森 浩二, 光藤和明, 池内 健: ステントの最適設計, 日本機械学会第11回バイオエンジニアリング学術講演会 (2000.10.20-21 新潟)

森 浩二, 光藤和明, 池内 健: 感度解析を用いたステントの設計, 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17 つくば)

森 浩二, 光藤和明, 池内 健: 冠動脈ステントの開発, 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17 つくば)

長澤貴司, 関戸 宏, 寺田宏平, 池内 健: 膝関節半月板のバイオメカニクスに関する研究, 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17 つくば)

K. Yoshinaka, T. Semoto, K. Ikeuchi: Development of automated catheter insertion system 10th ICBME (2000.12.6-9 Singapore)

2) 講演・シンポジウム

都賀谷紀宏: 歯科技工へのレーザー溶接の応用, 第22回歯科技工士養成所専任教員講習会 (2000.7.27 大阪)

都賀谷紀宏: レーザーが変える歯科技工, クローバー会第25回研究発表会 (2000.8.27 吹田)

都賀谷紀宏: 次世代の歯科技工——レーザーとリスクマネジメント——, 平成12年度大阪歯科大学歯科技工士専門学校同窓会大会学術講演会 (2000.11.23 枚方)

再生医学応用研究部門

組織再生応用分野 Department of Tissue Regeneration

【研究概要】

1. 本分野の主な研究テーマは、人工関節軟骨による新しい表面置換型人工関節の開発である。生体関節と人工関節の潤滑・負荷機構の生力学的研究結果に基づき、この15年間開発を進めてきた人工軟骨も、最も困難な課題である骨への強固な接着・固定に成功したので、臨床応用可能な人工材料になってきた。本テーマに関連する研究テーマは以下の如くである。

(1) 人工関節軟骨の骨への接着固定

人工関節材料として最も困難なこの問題を、我々は多孔性人工骨材料の孔内へ液状の PVA を含浸させ、ゲル硬化過程で両者を結合し、人工骨・軟骨複合材料として造ることに成功した。人工骨・軟骨複合材料を6ヶ月間家兎、犬にインプラントした結果、孔内への十分な新生骨侵入を認めた。

(2) 人工軟骨 PVA と多孔性人工骨 TFM (チタンファイバーメッシュ) との結合強度の強化

高分子量、高濃度の粘稠な PVA 原液を TFM 孔内に充分含浸させることが出来ず、両者の結合強度が 2.1Mpa と弱かったが、射出成形機により高温、高圧下に含浸させることにより4倍に増強させることができた。高温下のゲル化による物性の変化についても種々の条件下に作成されたゲルの引っ張り強度、伸度に著変なく最適条件を決定することができた。

(3) 犬大腿骨頭表面置換術

術後12ヶ月まで経時的に屠殺して股関節の病理学的検索を行ったところ、デバイスは大腿骨頭に固定され、臼軟骨の変化も少なく満足すべき結果を得た。図1にみられるように人工軟骨と生体軟骨は smooth な関節面を形成し、複合材料は強固に犬大腿骨頭に接着していた。これらの結果、臨床応用可能な材料としてヒト用デバイスの設計・試作を行う。

(4) 犬用人工椎間板置換術

術後12ヶ月まで屠殺し病理学的検索を行ったところ、デバイスは椎体に強固に固定され、旧来のデバイスで認められた不安定性による骨棘形成も目立たなかった。

(5) ウサギ人工半月板置換術

PVA ゲルにより作製した人工半月板でウサギの膝手術を行っている。

2. 骨粗鬆症と大腿骨頭部骨折の生力学的解析

大腿骨頭部骨折の人工骨頭置換術で摘出された大腿骨頭を用いて、大腿骨頭部骨折の骨折型を分類し、骨頭海綿骨の物性並びに骨梁の形態学的相違と骨折型との関係を明らかにしつつある。

3. 関節の修復に関する研究

培養軟骨細胞による軟骨欠損部の実験的研究を行い、軟骨細胞の形質維持に関する研究を行っている。

4. 関節軟骨最表層の構造と潤滑機能の研究

AFM により関節軟骨最表層構造を明らかにし、Hyaluronidase 等の酵素処理による構造の変化と同時に測定する摩擦係数の変化との関連を追及しつつある。

5. 肉腫細胞からの間葉系細胞の分化・増殖機構へのアプローチ

生体組織の修復あるいは再生は一連の遺伝子の秩序だった発現による細胞増殖の再開とも解釈できる。一方、癌は複数の遺伝子の変異が無秩序な遺伝子発現を引き起こすことによる、制御されない細胞増殖であり、時に増殖能を失った分化細胞も癌化する。両者は遺伝子発現による細胞の再増殖という点で共通点をもつ。すなわち癌細胞の増殖機構を理解することにより、特定の遺伝子の発現を人為的に変動させ、制御された増殖機構を創生することにより、増殖能を失った細胞により構成される組織でも修復再生しうる可能性がある。このような見地にとって、我々は間葉系細胞の悪性腫瘍である肉腫の遺伝子変異を解析し、分化増殖機構に関連する遺伝子の発現機構の解明を目指している。

6. 遺伝子改変マウスを用いた分化間葉系細胞系の樹立

間葉系細胞の分化過程の解析のためには分化形質を携えた不死化細胞系は有用な材料となる。癌抑制遺伝子である p53 遺伝子は細胞周期調節、アポトーシスの誘導、DNA 修復機構と多彩な生物学的機能を有しているが、ノックアウトマウスの発生成長過程はほぼ成長であり、特に筋骨格系には障害がない。一方 p53 遺伝子を欠く細胞はアポトーシスからの逸脱などにより不死化しやすい。この事を利用してノックアウトマウスから分化形質の解析モデルとしての細胞系の樹立を目指している。これまで骨芽細胞及び成長軟骨由来の軟骨細胞系の樹立に成功している。更に現在関節軟骨由来の軟骨細胞系樹立も試みており、これまでのところ良好な成長を示す細胞系を得ている。これらの細胞系を用いて分化形質の発現に関する、細胞基質間あるいは細胞細胞間でのシグナルの解析など、様々なアプローチで解析を進めている。

Main objective of our research field is to develop artificial osteo-chondral composite material with which to replace damaged joint surfaces

1. Since 15 years, we have developed the material composed of PVA Hydrogel and Titanium Fiber Mesh (TFM). As the most important prerequisite for artificial cartilage, that is, to attach the material to underlying bones firmly and quickly has been solved by new bone ingrowth into the pores of TFM, this material becomes a very promising joint material.
2. For clinical application to repair aseptic necrosis of the femoral head, we have implanted them to femoral head of beagle dogs (24 dogs). As this composite material is good candidate for artificial intervertebral disc, we have also implanted them into canine spine. The histological findings of the specimen obtained 12 months after the operation revealed the firm attachment of the device to the femoral head and almost intact articular surfaces of the acetabulum. These results encourage clinical use of this device for the treatment of aseptic necrosis of the femoral head.
3. To make clear fracture mechanisms of femoral neck fractures, we have examined various mechanical properties of cancellous bones taken from 55 femoral heads, removed for prosthetic replacement. By performing various mechanical tests of primary compressive trabeculae of the femoral head, mechanical and morphological characteristics of osteoporotic cancellous bone have been elucidated.
4. Upper most superficial layer of articular cartilage in relation to joint lubrication are observed using AFM. Influences of enzyme treatment like Hyaluronidase on the structure of articular cartilage and also on friction are examined. The results showed that protein rich membranous structures cover the joint surface and play important role in joint lubrication.

5. Investigation of the process of differentiation and proliferation of mesenchymal cells through the genetic analyses of sarcomas.

Tissue repair or regeneration may be defined as a resurgence of cell proliferation under harmonized expression of a set of genes. Cancers, on the other hand, are defined as an uncontrolled cell proliferation due to genetic alterations of several genes, which sometimes initiate transformation of fully differentiated cells lacking the ability to proliferate. Both processes share resurgence of cell proliferation due to expression of a set of genes. Therefore, it will be possible to repair tissues consisted of cells lacking the ability to proliferate by inducing the proper expression of a set of genes, if we understand the precise mechanisms of growth in cancer cells. From this standpoint, we have analyzed the molecular alterations in sarcomas to dissect the mechanisms of growth and differentiation of mesenchymal cells.

6. Establishment of immortal mesenchymal cell lines with differentiated phenotypes.

Immortal mesenchymal cell lines with specific differentiated phenotype are useful tools for biological studies in mesenchymal tissues. The tumor suppressor p53 protein has a pluripotent activity for cellular biology including the regulation of cell cycle, induction of apoptosis, and involvement of DNA repair system. The lack of p53, on the other hand, may give advantage for the escape for apoptotic signal in vitro, and endow cells to gain the indefinite growth potential. Taking the advantage of this character, we have tried to establish cell lines from mesenchymal tissue of p53^{-/-} mice. So far we have succeed to establish osteoblastic cell line, and chondrocytic cell line from growth plates. In addition, current study for chondrocytic cell line from articular cartilage seems to be encouraging. These cell lines will be useful tools for the analyses of growth and differentiation of specific cell type.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

P. Kumar, M. Oka, J. Toguchida, M. Kobayashi, E. Uchida, T. Nakamura and T. Tanaka: Role of uppermost superficial layer of articular cartilage in lubrication mechanism of joints. *J. Anatomy* 2001, in press.

岡 正典：人工椎間板の開発. 脊椎・脊髄ジャーナル, 12: 40-42, 1999.

速水 尚, 岡 正典, 福田秀章, 中村孝志：衝撃荷重下で観察された骨梁の疲労骨折挙動の解析（第2報）——有限要素法による衝撃解析——. 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21: 415-419, 2000.

原田恭治, 富田直秀, 岡 正典：高速荷重下での関節軟骨の破壊に関する研究（第1報）. 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21: 427-431, 2000.

岡 正典：緒言. 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21: 1-2, 2000.

江坂拓南, 岡 正典, 速水 尚, 戸口田淳也, 坂口一彦, 光成淳史, 中村孝志：骨粗鬆症海綿骨の力学的特性に関する研究（第2報）. 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21: 449-454, 2000.

渡辺雄祐, 岡 正典, 池内 健, 速水 尚, P. Kumar, 中村孝志, 牛尾一康, 内田恵美子, 坂口一彦：関節軟骨

- 最表層の構造と潤滑. 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21:439-444, 2000.
- 太田 信, 玄 丞然, 姜 有峯, 岡 正典, 堤 定美, 田邊裕貴, 三好良夫: 圧縮配向結晶化による超高分子量ポリエチレン結晶の残留応力測定. 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21:319-322, 2000.
- 牛尾一康, 中村孝志, 岡 正典, 玄 丞然, 速水 尚, 由良茂人, 浦川隆史: 犬大腿骨頭部分的表面置換術に於ける Stress Shielding. 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21:333-336, 2000.
- 森川将名, 岡 正典, 速水 尚, 玄 丞然, 牛尾一康, 中村孝志, 坂口一彦: PVA-H の力学的特性に関する研究. 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21:337-342, 2000.
- 二階堂崇之, 坂口一彦, 岡 正典, 速水 尚, 神先秀人, 中村孝志, 飯田寛和: 大腿骨頸部骨折の生力学的研究 (第1報) — 応力伝播挙動の FEM 衝撃解析 —. 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21:385-391, 2000.
- 光成淳史, 坂口一彦, 岡 正典, 速水 尚, 中村孝志: 大腿骨頸部骨折の生力学的研究 (第2報) — 海綿骨のせん断破壊特性 —. 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21:393-400, 2000.
- 福田秀章, 坂口一彦, 岡 正典, 由良茂人, 速水 尚, 中村孝志: イヌ腰椎人工椎間板の FEM 解析. 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21:53-56, 2000.
- 孕石佳久, 岡 正典, 由良茂人, 速水 尚, 玄 丞然, 戸口田淳也, 坂口一彦, 谷山和宏, 中村孝志: 犬用人工椎間板の力学的特性評価 (第2報). 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21:57-61, 2000.
- 久田祥博, 速水 尚, 児島忠倫, 岡 正典, 由良茂人, 玄 丞然, 中村孝志: 人工椎間板の疲労強度特性. 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21:63-67, 2000.
- 浦川隆史, 岡 正典, 速水 尚, 坂口一彦, 中村孝志, 牛尾一康: Bioactive 骨セメント使用における Stress Shielding の研究. 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 21:111-115, 2000.
- M. Oka: How to repair joint surface. Tissue engineering for therapeutic use 5. Elsevier. 2001, (in press).
- P. Kumar, M. Oka, J. Toguchida: Uppermost superficial layer of articular cartilage in joint lubrication. Proc. of International Biotribology Symposium, 2000.
- S. Yura, M. Oka, S. H. Hyon, S. C. Cui, T. Hayami, T. Nakamura, K. Ushio: Development of an artificial intervertebral disc. J. Appl. Biomaterials, 2001, (in press).
- M. Kobayashi, J. Toguchida, M. Oka: Study on the lubrication mechanism of natural joint by confocal laser scanning microscopy. J. Biomed. Mat. Res., 2001, (in press).
- M. Kobayashi, J. Toguchida, M. Oka: Development of the shields for tendon injury repair using PVA-H. J. Appl. Biomat., 2001, (in press).
- M. Kobayashi, J. Toguchida, M. Oka: Development of PVA-H Shields with a high water content for tendon injury repair. J. Hand. Surg., 2001, (in press).
- S. Yoshii, M. Oka: Peripheral nerve regeneration along collagen filaments. Brain research, 888: 158-162, 2001.
- S. Yoshii, M. Oka, T. Yamamuro, K. Ikeda, H. Murakami: Acetabular augmentation using a Glass-ceramic block. Acta. Orthop. Scand, 71: 580-584, 2000.
- M. Oka: Biomechanics and repair of articular cartilage. J. Orthop. Science, 2001, in press.
- H. Yamamoto, T. Nakayama, H. Murakami, T. Hosaka, T. Nakamata, T. Tsuboyama, M. Oka, T. Nakamura, J. Toguchida: High incidence of SV40-like sequences detection in tumour and peripheral blood cells of Japanese osteosarcoma patients. Br J Cancer. 82: 1677-1681, 2000.

- T. Tsuboyama, J. Toguchida, Y. Kotoura, K. Kasahara, M. Hiraoka, T. Nakamura: Intra-operative radiation therapy for osteosarcoma in the extremities. *International Orthopaedics*, 24: 202-207, 2000.
- T. Hosaka, H. Kanoe, T. Nakayama, H. Murakami, H. Yamamoto, T. Nakamata, T. Tsuboyama, M. Oka, M. Kasai, M. S. Sasaki, T. Nakamura, J. Toguchida: Translin binds to the sequences adjacent to the breakpoints of the TLS and CHOP genes in liposarcomas with translocation t(12; 16). *Oncogene*, 19: 5821-5825, 2000.
- 布留守敏, 戸口田淳也, 坪山直生, 中村孝志, 琴浦良彦: 当科における軟部原発平滑筋肉腫の臨床経過と治療成績. *中部整災誌*, 43: 321-322, 2000.
- 戸口田淳也, 長山 聡: 多発性外骨腫. *日本臨床*, 58: 1473-1478, 2000.
- 吹上謙一, 戸口田淳也, 坪山直生, 中村孝志, 琴浦良彦: 恥骨発生の分化型骨肉腫の臨床経過. *中部整災誌*, 43: 257-258, 2000.
- 戸口田淳也, 村上 弘, 山本博史, 仲俣岳晴: 骨肉腫の分子生物学. *小児外科*, 32: 2000-2010, 2000.

2) 著書および総説

- 岡 正典: 視座; 骨と材料の界面. *臨床・整形外科*, 35: 1069-1070, 2000.
- 岡 正典: 新しい生体材料の開発と展開. 先端医療技術研 越智隆宏編 先端医療シリーズ 8 整形外科, 117-126, 2000.
- 岡 正典: 人工関節軟骨. *日本医事新報*, 3998: 14-19, 2000.
- 岡 正典: 関節の潤滑機能. *骨と関節*, 14: 18-19, 2000.
- 岡 正典: 学術指導ビデオ; 運動を支える関節軟骨の世界. 桜映画社 中外製薬 19分.
- 岡 正典: 朝日テレビ; 腰痛に関する人工椎間板の開発. 9月16日放映.
- 岡 正典: 整形外科における生体材料の進歩. 永井書店 七川歆次監修 リウマチ病セミナー, 11: 265-274, 2000.
- 戸口田淳也: 骨・軟部腫瘍診断の手順. 医学書院 二ノ宮節夫, 富士川恭輔, 越智隆弘, 国分正一編集 今日の整形外科治療指針, 175-177, 2000.

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

- 武田 聡, 坂口一彦, 西浦 淳, 岡 正典, 速水 尚, 玄 丞然, 金 度勲, 戸口田淳也, 牛尾一康: ポリフェノールによる関節軟骨保存に関する研究. 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17 筑波)
- 牛尾一康, 中村孝志, 岡 正典, 玄 丞然, 速水 尚, 由良茂人: 犬大腿骨頭部分的表面置換術における Stress Shielding (第2報). 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17 筑波)
- 光成淳史, 坂口一彦, 岡 正典, 速水 尚, 中村孝志: 大腿骨頸部骨折の生力学的研究 (第三報) —— 海綿骨のせん断破壊特性 ——. 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17 筑波)
- 原田恭治, 富田直秀, 岡 正典, 青木秀之: 関節軟骨の再生と破壊に関する研究 (第一報). 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17 筑波)
- 渡辺雄祐, 坂口一彦, 岡 正典, 池内 健, 速水 尚, 中村孝志, 牛尾一康, 内田恵美子: 射出成形法による PVA-

- H の摩擦・摩耗特性. 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17 筑波)
- 西浦 淳, 坂口一彦, 岡 正典, 速水 尚, 玄 丞然, 松村和明, 牛尾一康, 中村孝志: 射出成形法による PVA-H の力学的特性に関する研究. 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17 筑波)
- 谷山和宏, 坂口一彦, 岡 正典, 由良茂人, 速水 尚, 中村孝志: 犬用人工椎間板の力学的特性評価 (第3報). 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17 筑波)
- 福田秀章, 坂口一彦, 岡 正典, 由良茂人, 速水 尚, 中村孝志: イヌ腰椎人工椎間板の FEM 解析 (第2報). 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17 筑波)
- 久田祥博, 速水 尚, 児島忠倫, 岡 正典, 由良茂人: 人工椎間板の疲労強度特性 (第2報) — 定荷重下疲労特性の検討 —. 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17 筑波)
- 高木順平, 岡 正典, 堤 定美, 吉田宏昭, 福田秀章, 中村孝志, 藤田 裕, 牛尾一康: Bioactive 骨セメント使用における Stress Shielding の研究 (第2報). 第27回日本臨床バイオメカニクス学会 (2000.11.16-17 筑波)
- 牛尾一康, 岡 正典, 玄 丞然, 金 度勲, 戸口田淳也, 中村孝志: ポリフェノールによる関節軟骨保存に関する研究. 第15回日本整形外科学会基礎学術集会 (2000.9.28-29 京都)
- 岡 正典, 神先秀人, 光成淳史, 戸口田淳也, 速水 尚, 中村孝志, 飯田寛和: 大腿骨頸部骨折の生力学的研究: 転倒メカニズムの視覚・力学的解析. 第15回日本整形外科学会基礎学術集会 (2000.9.28-29 京都)
- 由良茂人, 岡 正典, 玄 丞然, 崔 寿昌, 谷山和宏, 藤田 裕, 牛尾一康, 中村孝志: 人工椎間板の開発に関する研究 (第6報). 第15回日本整形外科学会基礎学術集会 (2000.9.28-29 京都)
- M. Oka, K. Ushio, Y. Matsusue, T. Nakamura, S. C. Cui: Synthetic osteochondral composite material for the treatment of aseptic necrosis of the femoral head. (Keynote lecture). International cartilage society, third symposium (2000.4.27-29 Gothenburg)
- M. Oka, K. Ushio, S.H. Hyon, T. Nakamura, S. Yura: Attachment of soft joint material to underlying bone. 6th World Biomaterial Cong. (2000.5.15-19 Hawaii)
- K. Ushio, M. Oka, S.H. Hyon, T. Nakamura, S. Yura: Synthetic osteochondral composite material for aseptic necrosis of the femoral head. 6th World Biomaterial Cong. (2000.5.15-19 Hawaii)
- S. Yura, M. Oka, S.H. Hyon, T. Nakamura, K. Ushio: Development of artificial intervertebral disc. 6th World Biomaterial Cong. (2000.5.15-19 Hawaii)
- M. Oka: How to repair to joint surface. AO Center for Research (2000.4.25, Davos)
- M. Oka, K. Ushio, S. H. Hyon, T. Nakamura, S. Cui: Development of artificial osteo-chondral composite material. SICOT-SIROT-CHINA (2000.5.8 Shanghai)
- M. Oka, S. Yura, S.H. Hyon, T. Nakamura, S. Cui, J. Li: Development of artificial intervertebral disc. SICOT-SIROT-CHINA (2000.5.11 Beijing)
- M. Oka: Osteochondral composite material for aseptic necrosis of the femoral head. (Plenary lecture). Indian Orthopedic Association, 45th congress 2000 (2000.11.4 Jaipur, India)
- M. Oka: Repair of joint surface. (Invited lecture). 5th meeting of Taiwan Biomechanics Society (2000.11.25 Kaoshing, Taiwan)
- 牛尾一康, 岡 正典, 玄 丞然, 中村孝志, 由良茂人, 藤田 裕, 戸口田淳也: 大腿骨頭壊死症に対する骨軟骨複合材料. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム2000 (2000.11.7-8 横浜)

- 由良茂人, 岡 正典, 玄 丞休, 牛尾一康, 藤田 裕, 中村孝志: PVA-Hydrogel を用いた人工椎間板の開発.
日本バイオマテリアル学会シンポジウム2000 (2000.11.7-8 横浜)
- M. Oka: Role of uppermost superficial layer of articular cartilage in joint lubrication. Biotribology
FUKUOKA 2000 (2000.10.28 Kyushu Univ.)
- H. Fukuda, M. Oka, T. Hayashi: Three dimensional FEM analysis for canine artificial intervertebral disc.
10th Internat Conf. on Biomed. Eng. (2000.12.6-9 Singapore)
- A. Mitunari, M. Oka, T. Hayami: Fracture behavior of cancellous bone under shear loading. 10th Internat
Conf. on Biomed. Eng. (2000.12.6-9 Singapore)
- Y. Kyuden, M. Oka, T. Hayami: Fatigue strength of a novel artificial intervertebral disc. 10th Internat
Conf. on Biomed. Eng. (2000.12.6-9 Singapore)
- T. Hayami, M. Oka: Fatigue fracture and stress concentration in trabecular bone under impact loading. 10th
Internat Conf. on Biomed. Eng. (2000.12.6-9 Singapore)
- M. Oka: How to repair joint surface. Fifth International Symposium on Tissue Engineering for Therapeutic
use (2000.11.7 筑波)
- 岡 正典: 人工骨軟骨複合材料の開発. JSPS 未来開拓学術研究推進事業第2回生体組織工学シンポジウム
(2000.3.23 大阪)
- T. Nakamura, S. Nishiguchi, H. Kato, H. Fujita, M. Oka, H. Kim and T. Kokubo: Titanium models for di-
rect bonding to bone cortex. Japan and British Orthopedic association, combined meeting (2000.10.5
London)
- 戸口田淳也, 坪山直生, 平岡真寛, 中村孝志: 荷重部術中照射骨軟骨の経時的変化について. 第33回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会 (2000.7.14 熊本)
- 村上 弘, 仲俣岳晴, 保坂泰介, 山本博史, 中山富貴, 坪山直生, 中村孝志, 戸口田淳也: マウス骨芽細胞の悪性
化に関わる新規がん遺伝子のクローニング. 第33回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会 (2000.7.15 熊
本)
- 山本博史, 村上 弘, 保坂泰介, 仲俣岳晴, 中山富貴, 坪山直生, 日下部守昭, 中村孝志, 戸口田淳也: キメラマ
ウスを用いた Rb(-/-) 骨芽細胞系の樹立. 第33回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会 (2000.7.15 熊本)
- 仲俣岳晴, 村上 弘, 山本博史, 保坂泰介, 仲俣岳晴, 坪山直生, 中村孝志, 相澤慎一, 戸口田淳也: p53 ノック
アウトマウスからの軟骨細胞様細胞株の樹立. 第33回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会 (2000.7.15
熊本)
- 保坂泰介, 鹿江 寛, 中山富貴, 村上 弘, 山本博史, 仲俣岳晴, 坪山直生, 中村孝志, 岡 正典, 戸口田淳也:
TLS-CHOP 融合遺伝子の癌化能の解析. 第33回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会 (2000.7.15 熊本)
- 戸口田淳也, 坪山直生, 琴浦良彦, 中村孝志: 仙骨脊索腫の治療成績. 第95回中部日本整形外科災害外科学会
(2000.10.13 高松)
- 松下 睦, 根尾昌志, 飯田寛和, 中村孝志, 戸口田淳也: 腰仙椎部の giant schwannoma. 第95回中部日本整形外
科災害外科学会 (2000.10.13 高松)
- 坪山直生, 中村孝志, 戸口田淳也, 笠原勝幸: 骨肉腫に対するシスプラチン, アドリアマイシン併用化学療法の長
期成績. 第95回中部日本整形外科災害外科学会 (2000.10.13 高松)
- 保坂泰介, 鹿江 寛, 中村孝志, 戸口田淳也: 粘液型脂肪肉腫における CHOP 関連遺伝子の臨床病理学的及び生

- 物学的解析. 第59回日本癌学会総会 (2000.10.4 横浜)
- 山本博史, 日下部守昭, 中村孝志, 戸口田淳也: Rb キメラマウスからの Rb(-/-) 骨芽細胞様細胞系の樹立. 第59回日本癌学会総会 (2000.10.4 横浜)
- 村上 弘, 中山富貴, 仲俣岳晴, 中村孝志, 戸口田淳也: 骨肉腫発癌過程に関与する新規癌遺伝子の単離. 第59回日本癌学会総会 (2000.10.6 横浜)
- 仲俣岳晴, 村上 弘, 中山富貴, 中村孝志, 戸口田淳也: 骨肉腫発癌過程に関与する新規癌抑制遺伝子の単離. 第59回日本癌学会総会 (2000.10.6 横浜)
- 戸口田淳也, 保坂泰介, 鹿江 寛: 脂肪肉腫における CHOP 関連染色体転座の分子機構. 第59回日本癌学会総会 (2000.10.4 横浜)
- 仲俣岳晴, 青山朋樹, 戸口田淳也, 坪山直生, 中村孝志: p53 遺伝子欠損マウスを用いた軟骨細胞系の樹立. 第20回骨・カルシウム代謝研究会 (2000.10.6 京都)
- 戸口田淳也, 長山 聡, 仲俣岳晴, 坪山直生, 岡 正典, 中村孝志: 多発性外骨腫 (EXT) 遺伝子の変異解析. 第15回外科学会基礎学術集会 (2000.9.28 京都)
- 戸口田淳也: 当科における小児骨肉腫の治療の現況. 第1回小児固形腫瘍研究会 (2000.3.2 京都)
- 戸口田淳也: 急速な進展を示した後腹膜腔発生脂肪肉腫の一例. 第2回小児固形腫瘍研究会 (2000.9.7 京都)
- 戸口田淳也: 多発性外骨腫の遺伝子解析. 第4回骨軟部腫瘍の基礎を語る会 (2000.9.28 京都)
- J. Toguchida, H. Murakami, T. Nakamata, T. Nakayama, T. Nakamura: Molecular cloning of putative oncogene and antioncogene involved in the development of osteosarcoma. 6th CTOS Annual Scientific Meeting (2000.11.3 Amsterdam)
- T. Hosaka, H. Kanoe, T. Nakamura, J. Toguchida: Clinico-pathological and biological analyses of the CHOP-related fusion genes in myxoid liposarcomas. 6th CTOS Annual Scientific Meeting (2000.11.3 Amsterdam)
- J. Toguchida, H. Murakami, H. Yamamoto, T. Nakayama, S. Aizawa, M. Kusakabe, T. Nakamura: Sequential inactivations of the Rb and p53 genes in osteoblasts are not sufficient to create. 2nd Cold Spring Harbor Meeting on Cancer Genetics & Tumor Suppressor Genes (2000.8.19 Cold Spring Harbor)
- H. Murakami, T. Nakayama, T. Nakamata, T. Nakamura, J. Toguchida: Molecular cloning of a novel putative oncogene involved in the development of osteosarcoma. 2nd Cold Spring Harbor Meeting on Cancer Genetics & Tumor Suppressor Genes (2000.8.18 Cold Spring Harbor)

2) 講演・シンポジウム等

- 岡 正典: 関節修復材料の開発. 産学交流フォーラム (2000.2.28 京都)
- 岡 正典: 関節の潤滑におよぼす高分子量ヒアルロン酸の影響. 京都薬剤師協会 (2000.8.29 京都)
- 岡 正典: 関節軟骨のバイオメカニクスと修復. 教育研修講演. 第15回日本整形外科学会基礎学術集会 (2000.9.28-29 京都)
- 戸口田淳也: 骨・軟骨を標的とした DDS. 第37回薬剤学懇談会研究討論会 (2000.6.21 淡路島)

器官形成応用分野 Department of Organ Reconstruction

【研究概要】

本分野では、膵島細胞を用いたバイオ人工膵の移植応用を主研究テーマとしている。

我が国においても糖尿病の罹患患者数は推定690万人、潜在的患者を含めると実に1,390万人にものぼるといわれている。この疾患は腎機能障害や網膜症による失明など深刻な合併症を伴う場合が多く、また、罹患患者はもちろんのこと、家族の負担や医療費の増大など多くの社会的問題をも包含している。現状では食事療法や体外からのインスリン補充療法などが行われているが、このような対症療法だけでは合併症の発症やその進行を阻止し得ない場合が多く、根本的かつ普遍的な治療法の確立が緊急課題となってきた。欧米においては、根本的治療法として膵臓器移植や膵島細胞移植も行われているが、他の臓器移植の場合と同様、深刻なドナー不足と免疫抑制剤の長期使用による副作用の問題があり、糖尿病に対する根本的な治療法の開発は緊急性の高い課題と位置付けられている。

一方、機能障害、欠損や不全に陥った生体組織・臓器に対し、細胞を積極的に利用することでその機能再生、あるいは、再構築をはかる再生医学に対して注目が集まっており、膵臓器移植や膵島移植においても付随する種々の問題を解決し得る最も有力な方法が再生医学を応用し開発したバイオ人工膵による膵島細胞再生医療であるとも考えられている。

このような観点から、移植に用いる細胞の安定的確保、移植細胞を免疫系から隔離する免疫隔離能膜の作製、免疫応答から免れる細胞の改変法の検索、移植細胞の長期生着・機能発揮のための検討、さらには、より簡便で低侵襲性の移植適用部位・方法の開発に関する検討を基礎研究から移植実験に至るまでの幅広い領域で展開し、21世紀の糖尿病治療において中心的な役割を担うバイオ人工膵を応用した再生医療の確立を臨床実用可能なレベルにまで押し上げるべく研究を進めている。

具体的には、①移植レシピエントに係わる問題、なかでも移植部位での酸素や栄養供給障害による移植細胞の損失の解消、および、バイオ人工膵移植部位の適正化や応用部位の拡大、②ドナー不足の解消へのアプローチとなる、移植バイオリクターの再生に係わる問題に対する検討、および、③移植後の生体応答（炎症反応や免疫反応）に係わる現象の解析を大きな柱として進めてきている。

① 移植レシピエントに係わる問題

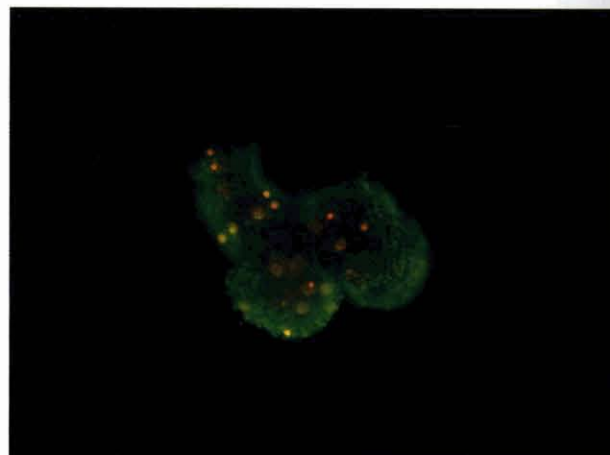
元来血管の乏しい皮下部位において、ポリエチレンテレフタレート（PET）メッシュを素材とする塩基性繊維芽細胞増殖因子（bFGF）徐放デバイスを移植に先立ち処置することで組織学的検討でも、組織中のヘモグロビン量や血流量を指標とした評価においても良好な血管新生誘導が認められ、また、腹腔内移植の場合にも PET メッシュを移植細胞支持体として用いるだけで血管新生誘導が可能であることを観察している。さらに、糖尿病モデル動物を用いてこれら前処置後に移植した膵島細胞の生着や機能性（血糖値の正常化など）が向上することを確認している（同種同系、同種異系、および、異種移植）。また、これら皮下移植に加え、腹腔内移植、さらには、皮下と同様に血管の乏しい筋間への移植においても糖尿病モデル動物へ移植した膵島細胞は機能しており、血管新生誘導処置の有効性を確認している。

② バイオリクターに係わる問題

コラゲナーゼ消化法を応用してラット、マウスからイヌに至るまで、各種動物からの安定的な膵島分離法を確立している。なかでも、臨床応用性、動物愛護、さらには、繁殖性の点から最も有用性が高いと考えられている。

成熟ブタ膵島や若齢ブタ膵内分泌細胞の分離法の確立にも成功し、これら細胞の機能（インスリン放出能や膵内分泌細胞特異的なホルモン類の検出）、さらには、移植細胞の生着や機能性を確認済である。

一方、移植に用いるバイオリアクターである膵島細胞やマウスインスリノーマ由来の膵 β 細胞株(MIN6)の機能性長期維持・向上を目指した検討も行っており、コラーゲン共存下で培養した場合にインスリン分泌能や膵島細胞特異的なホルモン類のmRNAの発現などを認め、その機能維持がはかれることを明らかにしている。



分離膵島（ラット）の蛍光染色像

さらに、膵島の幹細胞や胚性幹（ES）細胞を用いた膵島細胞の分化誘導・膵島再生に関する検討も展開中である。

③ 移植後生体変化に係わる問題

膵島細胞移植において、移植後の炎症反応や免疫応答により移植細胞の生着が阻害されたり、機能性が低下するなど大きな障害が観られる場合が多い。この点に対し、移植膵島細胞の支持体に免疫隔離能力を持った物質を選択し、これらの応用に関して検討を実施している。すでに、アガロース（ag）を用いたマイクロビーズやagとポリスチレンスルホン酸（PSSa）に封入した膵島細胞が移植後、長期にわたり機能することを確認している。

さらに、同系同種、同系異種、あるいは、異種移植時に動員される免疫系細胞群の動態や炎症関連分子群の挙動を解析する試みを検討中である。

The study of transplantation of Bio-artificial pancreas that uses the islet or the pancreatic endocrine cell is assumed to be a main research theme in our department.

In Japan, Diabetes Meritus (DM) contraction patients are presumed to rise about 6,900,000 people, and also think the number of a potential DM contraction people to be 13,700,000. This disease is accompanied by the complication such as kidney trouble and losing sight done by the retinopathy. Moreover, not to mention the contraction patients, social problem, that the load of the family, a lot of increase of the medical treatment expense, etc., have been included. Though the insulin administration therapy from the outside of the body and the dietetic treatment are done under the present situation, the appearance and the progress of the complications with DM won't often be obstructed only by such allopathy. Therefore, the establishment of fundamental and universal therapy for DM becomes an urgent problem. In Europe and America, it has been done the pancreas transplantation and islet transplantation as a fundamental therapy for DM. However, there is the serious shortage of donor organs, as well as the case of other internal organ transplantation, and the problem of the side effect by long-term use for the immunity control medicine. Consequently, the development of fundamental therapy under DM patient is still located to an urgent high problem.

On the other hand, attention gathers for the regenerative medicine to which the function is reproduce or restructures it by positively using the cell for the living body organization and internal organs which falls into the function trouble, the function loss, and the dysfunction. And it is thought that islet (and/or pancreas)

regenerative medical therapy by Bio-artificial pancreas is the most effective treatment by which the accompanied various problems can be solved is applied the regenerative medicine and developed in pancreas or islet (pancreatic endocrine cell) transplant.

From these viewpoints, we have been developing the study from a basic research to the transplantation experiment in a wide area, such as large scale preparation of islet (pancreatic endocrine cell) for transplantation, preparation of immuno-isolated membrane that transplanted cell are escaped from immune system, examination on transplanted islet (pancreatic endocrine cell) for long-term survival and functioning, and demonstrating the method which adjustment of low-damage transplantation site and procedure. These our study is advanced to push up the regenerative medical therapy by which Bio-artificial pancreas that plays one of the center role on the DM therapy in the 21st century to be applied even at possible practical use for clinical level.

In detail, we have been advancing the study as a big subject; ① The examination on the recipients side, especially improvement of the loss of the transplanted islet (pancreatic endocrine cell) due to low oxygen and nutrient conditions. ② The investigation that compromise regeneration of the transplanted bio-reactor in Bio-artificial pancreas which becomes an approach to the solution of donor shortage. And ③ The analysis of the phenomenon that affects the response after transplantation.

① The examination of the subjects on the recipients.

Using the evaluation on the amount of the hemoglobin under the transplanted site and the flowing quantity of blood circulation, we found satisfactory angiogenesis at transplanted subcutaneous site where has originally poor blood vessel by the implant the control release device, which made from polyethylene terephthalate (PET) mesh, containing basic fibroblast growth factor (bFGF) before the transplantation. And, we also found the angiogenesis in the case of transplantation within an abdominal cavity, only using PET mesh device that supports the transplanted cells. Moreover, the survival and the function (normalization of the blood glucose level etc.) on the islet transplantation to DM model animals after the angiogenesis pre-treatment were observed.

In addition, we also demonstrated the function of the transplanted islet into DM model animals after the angiogenesis treatment in the case of transplantation within an abdominal cavity (iso- and allo-transplantation), into subcutaneous space (iso-, allo-, and xeno-transplantation), and into intra-muscular site, where as poor blood vessel as the subcutaneous site.

② The investigation that compromise regeneration of the transplanted bio-reactor in Bio-artificial pancreas.

We have already established the procedure on preparation of the islet and/or the endocrine cell from various animal pancreas, such as rat, mouse, hamster, dog etc., that applied by the collagenase digestion method. Particularly, the preparation of the islet from adult mature pig and the pancreatic endocrine cell from young pig were achieved, and now it has been thought that the utility of porcine pancreas is the highest because of clinical application, animal protects and its bred point. And we confirmed the function of these prepared porcine cells by the estimation of insulin secretion ability and pancreatic endocrine cell specific hormones. Moreover, the survival and the function on the transplanted these porcine pancreatic cells

were demonstrated.

The long-term maintenance and the improvement of the function were also studied on the islet and/or the pancreatic endocrine cell, which use the transplantation as bio-reactor, and MIN 6, that pancreatic β cell line from mouse insulinoma. When those cells were cultured with some types of collagen etc., maintenance of the function was confirmed by insulin secretion and expression of mRNA on pancreatic endocrine cell specific hormones.

And now, we research the proliferation, the differentiation and the regeneration of the pancreatic islet cell, concerning the stem cell of pancreatic endocrine cell and the embryonic stem (ES) cell.

③ The analysis of the phenomenon that affects the response after transplantation.

In the islet (pancreatic endocrine cell) transplantation, many difficulties on transplanted cell were observed frequently, such as the decrease in cell function and the inhibition of survival come from the inflammatory reaction and the immune response. As respects these difficulties, we examined the application of support materials, having immuno-isolated abilities, around transplanted cell. During long experiment period, the function of islet in agarose micro bead or three layer micro capsule made by agarose and polystyrene sulfonic acid (PSSa) were observed.

In addition, we now analyze the profiles of the cell involved immune system and the molecules related with inflammation.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

K. Inoue, M. Miyamoto: Basic knowledge of interest- islet transplantation. Journal-Hepatobiliary-Pancreat-Surg 7:163-177, 2000

Y. J., Gu, M. Miyamoto, W. X., Cui, B.Y. Xu, Y. Kawakami, T. Yamasaki, H. Setoyama N. Kinoshita, H. Iwata, Y. Ikada, M. Imamura, K. Inoue: Effect of neovascularization-inducing bioartificial pancreas on survival of syngeneic islet graft. Transplant Proc 32: 2494-95, 2000

Y. J., Gu, M. Miyamoto, W. X., Cui, B. Y. Xu, Y. Kawakami, T. Yamasaki, H. Setoyama N. Nagata, A. N. Balamurugan, Y. Morimoto, A. Satake, H. Iwata, M. Imamura, M. Nozawa, K. Inoue: Development of a new bio-artificial pancreas possessing angiogenesis-inducing function Transplant Proc 32: 2475, 2000

Kawakami Y., Iwata H., Gu Y. J., Miyamoto M., Murakami Y., Yamasaki T., Cui W., Ikada Y., Imamura M., Inoue K.: Modified subcutaneous tissue with neovascularization as the site for pancreatic islet transplantation. Cell Transplant 9: 729-32, 2000

Kinoshita-N, Echigo-Y, Shinohara-S, Y. J. Gu., Miyazaki-J, Inoue-K, Imamura-M: Regulation of cell proliferation using tissue engineering in MIN6 cells. Cell transplant (in press)

Miyamoto M., A. N. Balamurugan., Morimoto Y., Nozawa Y., Sakurai T., Xu B., Yoshimura S., Tanaka T.,

- Tohyama T., Inoue K.: Development of cryopreservation procedure of freezer bag for pancreatic islets using newly developed cryoprotectant. Cell transplant (in press)
- Wenjing Wang., Y. J. Gu., Miyamoto M., Hori H., Nagata N., A. N. Balamurugan. Inoue K.: Effect of basic fibroblast growth factor on insulin secretion from micronecapsulated pancreatic islets; an in vitro study. Cell transplant (in press)
- Hori H., Y. J. Gu., Nagata N., A. N. Balamurugan., Satake A., Morimoto Y., W. J. Wang., Misawa Y., Nozawa Y., Nemba T., Miyamoto M., Nozawa M., Inoue K.: Isolation, culture and characterization of endocrine cells from six-months-old porcine pancreas. Cell Transplant (in press)
- Y. J. Gu., Tabata Y., Kawakami Y., A. N. Balamurugan., Hori H., Nagata N., Satake A., W. X. Cui., R. M. G Qi., Misawa Y., Toma M., Miyamoto M., Nozawa M., Inoue K.: Development of a new method to induce angiogenesis at subcutaneous site of streptozotocin-induced diabetic rats for islet transplantation. Cell Transplant (in press)
- Wanxing Cui., Do-Hoon Kim., Imamura M., Suong-Hyu Hyon., Inoue K.: The tissue-engineering pancreatic Islets — culturing the rat islets in the chitosan sponge. Cell Transplant (in press)
- Nagata N., Y. J. Gu., Hori H., A. N. Balamurugan., Tome M., Kawakami Y., Wenjing Wang., Satake A., Misawa Y., Baba T., Miyamoto M., Nozawa M., Tabata Y., Inoue K.: Evaluation of insulin secretion of isolated rat islets cultured in extracellular matrix. Cell Transplant (in press)
- A. N. Balamurugan., Y. J. Gu., Tabata Y., Miyamoto M., W. X. Cui., Hori H., Satake A., Nagata N., W. J. Wang., Inoue K.: Prevascularized intermuscular space: A potential site for bioartificial pancreas transplantation. Cell Transplant (in press)
- Baoyou Xu., Y. J. Gu., Miyamoto M., A. N. Balamurugan., W. X. Cui., Imamura M., Iwata H., Inoue K.: The influence of anticomplement synthetic sulfonic polymers on function of pancreatic islets: an in vitro study. Cell Transplant (in press)
- Baoyou Xu., Iwata H., Y. J. Gu., A. N. Balamurugan., Murakami Y., W. X. Cui., Imamura M., Inoue K.: Functional comparison of the Agarose microbeads and the developed three layer Agarose microbeads as the bioartificial pancreas: An in vitro study. Cell Transplant (in press)
- Inoue K.: Invited critiques for “Laparoscopy-assisted billroth I gastrectomy compared with conventional open gastrectomy”. Arch Surg 135(7), 810, 2000
- Kitagawa K., Aida C., Fujiwara H., Yagami of T., Futaki S., Kogire M., Ida J., Inoue K.: Facile solid-phase synthesis of sulfated tyrosine-containing peptides: Total synthesis of human big gastrin-II and cholecystokinin (CCK)-39. J Org Chem (in press)

2) 著書および総説等

- 土井隆一郎, 井上一知, 今村正之: 救急患者の薬物療法 3. 代謝・内分泌系 高血糖・低血糖
- 土井隆一郎, 井上一知, 今村正之: 特集: 薬物マニュアル 高血糖・低血糖. 臨床外科
- 井上一知: 特集: 「21世紀における再生医療の役割」 BIO INDUSTRY, 1月号・2月号 (編集企画)
- 井上一知: 再生医療に果たす役割とは. BIO INDUSTRY, 17巻, 1月号, 5-8, 2000
- 井上一知, 宮本正章, 顧 元駿: 膵島移植の現状と将来展望. 膵臓 (日本膵臓学会誌) 14(6): 437-454

- 井上一知：再生医療の果たす役割とは。21世紀の再生医療（監修 井上一知，シーエムシー）1-4，2000
- 藤沢 章，井上一知：硬組織を標的とする再生医療実用化への課題。21世紀の再生医療（監修 井上一知，シーエムシー）70-74，2000
- 宮本正章，森元良彦，野澤由香，王 文敬，井上一知，許 宝友，瀬戸山博，川上義行，岩田博夫：膵臓を標的とする再生医療の役割。21世紀の再生医療（監修 井上一知，シーエムシー）130-138，2000
- 宮本正章，森元良彦，野澤由香，許 宝友，王 文敬，野澤真澄，井上一知，瀬戸山博，川上義行，岩田博夫：再生医学の応用の現状と課題人工膵（免疫隔離）。Pharma Medica，18：57-62，2000
- 井上一知：再生医療の果たす役割とは。特集；21世紀における再生医療の役割（企画：井上一知）BIO INDUSTRY，17：5-8，2000
- 宮本正章，森元良彦，野澤由香，王 文敬，井上一知，許 宝友，瀬戸山博，川上義行，岩田博夫：膵臓を標的とする再生医療の役割。BIO INDUSTRY，17：64-72，2000
- 川上義行，今村正之，井上一知：先端医療を支える新しい治療法(5)—— Islet cell transplantation の適応と展望。医薬の門，40：66-72，2000
- 宮本正章，崔 万興，森元良彦，顧 元駿，井上一知：成熟ブタ膵島分離法。Organ Biology，7：31-38，2000
- 井上一知：膵島細胞移植の現状と今後の展望。KYORIN-symposium〈胆・膵診療シリーズ（Ⅱ）〉ドクターサロン，44(8)，2000
- 井上一知，大串 始，黒柳能光，千葉敏行：再生医学の現状と将来展望（企画：井上一知）。薬の知識，51：1-14，2000
- 井上一知：健康指標プロジェクトシリーズ22 再生医療とバイオ人工臓器。環境と健康，13：160-169，2000
- 堀 洋，顧 元駿，井上一知：再生医療の現状と21世紀への展望—— 膵島再生医療の確立—— 技術予測シリーズ。21世紀に期待される技術—— その将来展望 第三巻 医療・健康・高齢化社会への技術対応（2000）日本ビジネスレポート社
- 長田奈津紀，藤間真紀，井上一知：特集「臓器の新生・再生と胚性幹細胞」膵島の再生。血液・免疫・腫瘍，5：357-361，2000，メディカルレビュー社
- 長田奈津紀，井上一知：膵島の再生—— 最近の知見。膵臓（印刷中）
- 藤間真紀，井上一知：特集「移植・再生医療の実際と展望」—— 臓器移植 vs 細胞移植 —— 移植再生医療の最先端 膵再生 Regeneration of pancreas。総合臨床（印刷中）
- 櫻井智徳，顧 元駿，井上一知：人工膵臓研究の最先端。臨床外科（印刷中）
- 井上一知：21世紀における再生医療 ミレニアム特別企画・21世紀消化器病学 私の「夢」を語る。医事出版社
- 堀 洋，井上一知：再生医学の課題と将来展望—— 特に，膵島再生医療を中心に。新医療（印刷中）

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

- 堀 洋，顧 元駿，長田奈津紀，A. N. Balamurugan，佐竹 晃，宮本正章，野澤真澄，井上一知：分離ブタ膵臓由来内分泌細胞の培養と機能に関する検討。第27回膵・膵島移植研究会（2000.3 仙台）
- 長田奈津紀，堀 洋，顧 元駿，A. N. Balamurugan，佐竹 晃，宮本正章，野澤真澄，井上一知：細胞外マトリックス存在下における単離ラット膵ランゲルハンス分泌機能評価。第27回膵・膵島移植研究会（2000.3

仙台)

顧 元駿, 田畑泰彦, 川上義行, 佐竹 晃, 宮本正章, 野澤真澄, 井上一知: 糖尿病ラットにおける血管誘導後の同種膵島皮下移植に関する検討. 第27回膵・膵島移植研究会 (2000.3 仙台)

顧 元駿, 田畑泰彦, 川上義行, 佐竹 晃, 宮本正章, 野澤真澄, 井上一知: 血管新生誘導性バイオ人工膵を用いたラット同種膵島移植に関する検討. 日本外科学会 (2000.4 東京)

宮本正章, Appakalai Balamurugan, 森元良彦, 野澤由香, 許 宝友, 佐竹 晃, 吉村滋弘, 田中常雄, 遠山敏弘, 野澤真澄, 井上一知: 新しい膵島凍結傷害保護液によるバック型膵島凍結保存法の開発. 第8回細胞療法研究会 (2000.4 京都)

木下直子, 顧 元駿, 井上一知, 今村正之: Regulation of Cell Proliferation using Tissue Engineering Trial to MIN6. 第8回細胞療法研究会 (2000.4 京都)

堀 洋, 顧 元駿, 長田奈津紀, Appakalai Balamurugan, 佐竹 晃, 宮本正章, 野澤真澄, 井上一知: プタ膵臓由来内分泌細胞の分離, 培養と機能評価. 第8回細胞療法研究会 (2000.4 京都)

長田奈津紀, 顧 元駿, 堀 洋, Appakalai Balamurugan, 佐竹 晃, 宮本正章, 野澤真澄, 井上一知: 細胞外マトリックス存在下における単離ラット膵ランゲルハンス島のインスリン分泌機能評価. 第8回細胞療法研究会 (2000.4 京都)

王 文敬, 顧 元駿, 宮本正章, 堀 洋, 長田奈津紀, 井上一知: マイクロカプセル型バイオ人工膵の機能に対する塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) の影響について: in vitro における検討. 第8回細胞療法研究会 (2000.4 京都)

許 宝友, 岩田博夫, 顧 元駿, 村上能庸, 崔 万興, 今村正之, 井上一知: Agarose/PSSa 三層ビーズ型人工膵と Agarose ビーズ人工膵の機能比較……in vitro における検討. 第8回細胞療法研究会 (2000年 4月 京都)

許 宝友, 岩田博夫, 顧 元駿, 村上能庸, 崔 万興, 今村正之, 井上一知: 抗補体性合成高分子化合物の膵島細胞に及ぼす影響. 第8回細胞療法研究会 (2000.4 京都)

崔 万興, 金 度勲, 今村正之, 玄 丞然, 井上一知: Culture of rat islets in the chitosan sponge for subcutaneous islet transplantation. 第8回細胞療法研究会 (2000.4 京都)

顧 元駿, 田畑泰彦, 川上義行, 佐竹 晃, 宮本正章, 野澤真澄, 井上一知: 糖尿病ラットの皮下血管誘導法に関する検討. 第8回細胞療法研究会 (2000.4 京都)

Appakalai Balamurugan, 顧 元駿, 田畑泰彦, 崔 万興, 宮本正章, 井上一知: Induction of angiogenesis in intermuscular site for islet transplantation: Effect of gelatin microspheres containing basic fibroblast growth factor. 第8回細胞療法研究会 (2000.4 京都)

Appakalai Balamurugan, 顧 元駿, 田畑泰彦, 崔 万興, 宮本正章, 野澤真澄, 井上一知: Survival and function of transplantation rat islets at prevascularized intermuscular site — effect of angiogenesis induction —. 第12回日本肝胆膵外科学会 (2000.5 名古屋)

顧 元駿, 田畑泰彦, 川上義行, 佐竹 晃, 宮本正章, 野澤真澄, 井上一知: 糖尿病ラットにおける皮下血管誘導後の同種膵島移植に関する検討. 第43回日本糖尿病学会年次学術集会 (2000.5 名古屋)

Appakalai Balamurugan, 顧 元駿, 田畑泰彦, 崔 万興, 宮本正章, 井上一知: Induction of angiogenesis in intermuscular site for islet transplantation: Effect of gelatin microspheres containing basic fibroblast growth factor. 第43回日本糖尿病学会年次学術集会 (2000.5 名古屋)

堀 洋, 顧 元駿, 長田奈津紀, A. N. Balamurugan, 佐竹 晃, 宮本正章, 野沢真澄, 井上一知: 第3回日本異種移植研究会 (2000.6 大阪)

金 度勲, 崔 万興, 井上一知, 玄 丞然: ラット腹腔大動脈の体温での長期保存とその同種移植. 第3回日本組織工学会 (2000年6月 広島)

A. N. Balamurugan, 顧 元駿, 田畑泰彦, 崔 万興, 宮本正章, 井上一知: 同種膵島筋間移植に関する検討 — 新生血管誘導の効果について —. 第38回日本人工臓器学会大会 (2000.9 四日市)

顧 元駿, 田畑泰彦, Balamurugan A. N., 堀 洋, 長田奈津紀, 藤間真紀, 宮本正章, 野沢真澄, 井上一知: 糖尿病ラットの皮下血管新生誘導法の確立. 第36回日本移植学会総会 (2000.10 岐阜)

堀 洋, 顧 元駿, 森元良彦, 長田奈津紀, 藤間真紀, A. N. Balamurugan, 宮本正章, 野沢真澄, 井上一知: 6ヶ月齢ブタ膵内分泌細胞の単離・培養と移植応用. 第36回日本移植学会総会 (2000.10 岐阜)

堀 洋, 顧 元駿, 長田奈津紀, 藤間真紀, A. N. Balamurugan, 宮本正章, 井上一知: 単離ブタ膵内分泌細胞の機能と移植材料としての再構築. 第73回日本生化学会 (2000.10 横浜)

長田奈津紀, 顧 元駿, 堀 洋, A. N. Balamurugan, 藤間真紀, 井上一知: 培養単離膵内分泌細胞と培養単離膵島における内分泌機能の評価と比較検討. 第23回日本分子生物学会 (2000.12 神戸)

Gu Y. J., Tabata Y., Balamurugan A. N., Miyamoto M., Nozawa M., Inoue K: Development of a method to induce angiogenesis at subcutaneous site of diabetic rats for islet transplantation. International Congress of the Transplantation Society (2000. 8 Rome)

Balamurugan A. N., Gu Y. J., Tabata Y., Cui W. X., Miyamoto M., Nozawa M., Inoue K: Survival and function of transplanted rat islets at prevascularized intermuscular site-effect of angiogenesis induction. International Congress of the Transplantation Society (2000. 8 Rome)

N. Nagata, Y. J. Gu, H. Hori, A. N. Balamurugan, M. Miyamoto, M. Nozawa, Y. Tabata, K. Inoue: Evaluation of insulin secretion of isolated rat islet cultured in extracellular matrix. The 5th International Symposium on Tissue Engineering for Therapeutic Use (2000.11 Tsukuba)

Gu Y. J., Tabata Y., Balamurugan A. N., Miyamoto M., Nozawa M., Inoue K: Development of a method to induce angiogenesis at subcutaneous site of diabetic rats for islet transplantation. The 5th International Symposium on Tissue Engineering for Therapeutic Use (2000.11 Tsukuba)

2) 講演

井上一知: 特別講演 再生医学からみた膵移植と将来展望. 第8回北海道消化器外科セミナー (2000.2 札幌)

井上一知: 再生医療とバイオ人工臓器. 第11回健康指標プロジェクト例会 (2000.2 京都)

井上一知: 再生医療の現状と展望 — 新規医療産業の柱となり得るか —. 第87回科学技術講演会講演 (後援: 科学技術庁, 京都新聞社, NHK 京都放送局) (2000.5 京都)

井上一知: 特別講演 再生医学からみた膵移植と将来展望. 第12回神奈川移植医学会 (2000. 横浜)

井上一知: 再生医学からみた膵移植と将来展望. 京都整形外科医会学術講演会 (2000.6 京都)

井上一知: 特別講演 再生医学の現状と21世紀への展望. 第7回外科フォーラム (2000.7 仙台)

井上一知: 再生医療のめざすもの — その現状と21世紀の展望. 大津. 医学生会サマーセミナー2000「市民健康講座」 — (主催: 大津医学生会 後援: 滋賀県大津市, 大津市医師会等) (2000.8 滋賀)

井上一知: 再生医学と臨床への展望. ONO Millennium Summer Seminar in Tokyo「21世紀の医療」(2000.9 東京)

臓器再建応用分野 Department of Bioartificial Organs

【研究概要】

臓器再建応用分野の研究目的は、全身のあらゆる軟組織、臓器を対象とした再生医療で、自己の細胞が増殖、分化できる足場となる適切な環境を体内に与えることによって、自己の臓器が本来の構造と機能を取り戻して再生復元することを目指しています。

これによって、現在治療法がない難病患者、人工臓器で延命中の患者、或いは移植ドナーの不足のために死亡している症例の多くが救われます。また、高騰を続ける医療費が激減することが予想されます。

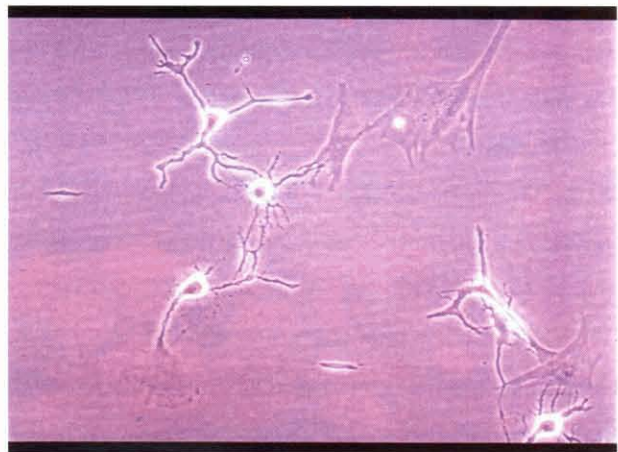
研究の方法としては、再生医学の3つの柱である(1)足場、(2)細胞、(3)活性因子、を生体内で働かせる *in situ* Tissue Engineering を中心に研究を進めています。すなわち、同種・異種の臓器や組織から精製した細胞外マトリックス、酵素で分解・抽出して完全に免疫原性をなくした蛋白質、生体内で穏和に分解吸収される合成高分子、各種の細胞の増殖成長因子などの材料 DDS (薬物送達システム) を組み合わせて、欠落した組織や臓器の再生する足場となる枠組み (細胞外マトリックス) を生体内に作ります。この枠組みを足場として利用して、生体内の幹細胞が増殖、分化し、自己の組織や臓器が再生復元されます。また、幹細胞の分離・増殖を行い組織再生に用いる研究や瘢痕状になった細胞外マトリックスを融かして、再び本来の細胞外マトリックスに戻す研究も進めています。

現在行っている研究内容は下記のように分類されます。

- ① 角膜、心膜、胸膜、腹膜、脳硬膜などの膜系
- ② 血管、気管、消化管などの管状臓器
- ③ 外力の加わる組織 (永久歯、歯根膜)
- ④ 末梢神経、脊髄などの神経系
- ⑤ 泌尿器系
- ⑥ 肝臓、膵臓、甲状腺、上皮小体、脾臓などの実質性代謝臓器
- ⑦ 脂肪組織や筋肉組織や、その他軟組織
- ⑧ この他に人工臓器の開発や造影剤の研究、バイオマテリアルの研究

当分野の研究は、細胞が増殖、再分化して、元の臓器を復元させる仕組み (環境) を人工的に体の中に作れば、哺乳動物の臓器や組織もいもりのよう

に再生復元するというメカニズムを医学に応用するものです。このような *in situ* Tissue Engineering は世界に先駆けて我々が提称してきた方法であり、次世代の医療の中心的柱になると考えられます。



神経に誘導分化させた MSC

In situ Tissue Engineering: We have devised a completely new approach to the development of artificial organs. The main procedure using tissue engineering for soft tissues involves the removal of the cell component from auto- or allo-organs to obtain only the extracellular matrix, so-called refined extracellular matrix (ECM) and reconstitutes the solid structure from the extracted collagen. This ECM or reconstituted

structure is then employed as scaffolding, which after implantation into the patients is used for the regeneration or re-differentiation of tissue. Organs made of self-cells thus regenerate. Organs that regenerate in this manner not only possess highly differentiated tissue structures, but also show functional recovery, because all the cells are derived from the patients themselves. Whether or not our new method is practicable will depend mainly on the intrinsic regeneration capacity of each tissue. Up to now, in higher mammals including man, it has been believed that highly differentiated organs lose their ability to regenerate. We consider that mammals do not, in fact, lose this potential, and that the potential is hidden by excessively rapid wound healing around the failing tissues. In this sense, if we can provide good conditions using refined ECM, we can induce this hidden potential even in higher mammals. We have already carried out successful trials at regenerating peripheral nerves, the esophagus, the trachea, and blood vessels with this method. A similar method is also applicable to other soft tissue organs such as the liver, heart, and lung, as well as the spinal cord. These results will be welcomed by patients who are dependent on palliative life-support systems, or transplantation candidates who are waiting for suitable donors. An additional benefit is that patients will be freed from the side effects of immunosuppressive drugs. The judgment of the brain death can then be discussed separately from the issue of transplantation, and will become a personal problem. Further more, this new approach help to reduce ever-expanding medical costs, which are in danger of destroying our health insurance system in the near future.

No study based on these concepts has ever been done either in Japan or abroad. In this sense, our pioneering work is expected to be a major area of medical science for the coming generation.

Strategy of our study

The target organs currently being considered for this development project are the heart, heart valves, esophagus, trachea, peripheral nerves, spinal cord, cornea, tendons, and ligaments. We plan to employ the two major methods as described below.

ECM Method

To obtain the purified extracellular matrix, cell components are completely removed from homo or allo-organs. The solid structure is reconstituted from the ECM and extracted collagen. Growth factors are then applied to facilitate cell proliferation. Then this ECM-collagen-growth factor composite is implanted into the living body as a temporary scaffolding for new organ regeneration. Besides this, bioabsorbable materials will also be applied instead of purified ECM as a bulk structure for organ regeneration. Both extracted collagen and growth factors should facilitate cell proliferation and cell redifferentiation, leading to regeneration of organs completely composed of cells derived from patients.

Cell+ECM Method

Cells (or living tissues) of patients are complexed (mixed) with purified ECM or bioabsorbable material. Using this complex, reconstruction of the failing tissues or organs will be attempted. Mesenchymal stem cell (MSC) obtained from the bone marrow is now applied to this method.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 総説

清水慶彦：再生医学と21世紀の医療；その進歩と課題. *Pharma Medica*, 18(1)：11-13, 2000

清水慶彦：再生医学はどこまでいくのか. *Pharma Medica*, 18(1)：93-95, 2000

清水慶彦：神経を再生する医療. *Materials Integration*, 13(2)：51-57, 2000

清水慶彦：末梢神経. 蛋白質 核酸 酵素. 45(13)：2276-2282, 2000

清水慶彦：神経を再生する医療. マテリアルインテグレーション. 13(2)：51-57, 2000

清水慶彦：バイオ人工神経ガイド. 医学のあゆみ. 195(3)：184-187, 2000

中村達雄：軟組織（膜，気管，食道）の再生. *Pharma Medica* 18(1)：75-80, 2000

中村達雄：バイオ人工気管. 医学のあゆみ. 195：199-200, 2000

2) 原著論文

Y. Liu, T. Nakamura, Y. Yamamoto, K. Matsumoto, T. Sekine, H. Ueda, Y. Shimizu: A new tracheal bioartificial organ: Evaluation of a tracheal allograft with minimal antigenicity after treatment by detergent. *ASAIO Journal* 46: 536-539, 2000

T. Sekine, T. Nakamura, Y. Liu, H. Ueda, K. Matsumoto, Y. Shimizu: Collagen coated Y-shaped prosthesis for carinal replacement promotes regeneration of the tracheal epithelium. *ASAIO Journal* 46(4): 421-425, 2000

K. Matsumoto, K. Ohnishi, T. Sekine, H. Ueda, Y. Yamamoto, T. Kiyotani, T. Nakamura, K. Endo, Y. Shimizu: Use of a newly developed artificial nerve conduit to assist peripheral nerve regeneration across a long gap in dogs. *ASAIO Journal* 46(4): 415-420, 2000

Y. Liu, T. Nakamura, T. Sekine, K. Matsumoto, H. Ueda, M. Yoshitani, T. Toba, Y. Shimizu: New type of tracheal bioartificial organ treated with detergent: Maintaining cartilage viability is necessary for successful immunosuppressant-free allotransplantation. *ASAIO Journal* 46(5): 536-539, 2000

Y. Hori, T. Nakamura, K. Matsumoto, Y. Kurokawa, S. Satomi, Y. Shimizu: Experimental study on in situ tissue engineering of the stomach by acellular collagen sponge scaffold grafting. *ASAIO Journal* (in press)

Y. Yamamoto, T. Nakamura, Y. Shimizu, K. Matsumoto, Y. Takimoto, Y. Liu, H. Ueda, T. Sekine, N. Tamura: Intrathoracic esophageal replacement with a collagen sponge silicone double layer tube: Evaluation of omental-pedicle wrapping and prolonged placement of an inner stent, *ASAIO Journal* (in press)

Y. Hori, T. Nakamura, K. Matsumoto, Y. Kurokawa, S. Satomi, Y. Shimizu: Experimental study on tissue engineering of the small intestine. *International Journal of Artificial Organs* (in press)

Y. Liu, T. Nakamura, Y. Yamamoto, K. Matsumoto, T. Sekine, H. Ueda, Y. Shimizu: Immunosuppressant-free allotransplantation of the trachea: The antigenicity of tracheal grafts can be reduced by

- removing the epithelium and mixed glands from the graft by detergent treatment. *J Thorac Cardiovasc Surg* 120: 108-114, 2000
- A. Iwakura, Y. Tabata, K. Nishimura, T. Nakamura, Y. Shimizu, M. Fujita, M. Komeda: Basic fibroblast growth factor may improve devascularized sternal healing. *The Annals of Thoracic Surgery* 70: 824-828, 2000
- A. Iwakura, Y. Tabata, M. Miyao, M. Ozeki, N. Tamura, A. Ikai, K. Nishimura, T. Nakamura, Y. Shimizu, M. Fujita, M. Komeda: Novel method to enhance sternal healing after harvesting bilateral internal thoracic arteries. *Circulation* 102: III307-III311, 2000
- A. Iwakura, M. Fujita, K. Hasegawa, T. Sawamura, R. Nohara, S. Sasayama: Pericardial fluid from patients with unstable angina induces vascular endothelial cell apoptosis. *Journal of the American College of Cardiology* 35: 1785-1790, 2000
- M. Inoue, T. Nakamura, K. Shigeno, H. Ueda, N. Tamura, S. Fukuda, Y. Liu, T. Nakahara, T. Toba, M. Yoshitani, T. Iizuka, and Y. Shimizu: Regeneration of junctional epithelium and connective tissue after transplantation of detergent-processed allo-teeth the international. *International Journal of artificial organs* (in press)
- K. Fujiwara, K. Hayakawa, Y. Nagata, M. Hiraoka, T. Nakamura, Y. Shimizu, Y. Ikada: Experimental embolization of rabbit renal arteries to compare the effects of poly L-lactic acid microspheres with and without Epirubicin release against intraarterial injection of epirubicin. *Cadio Vascular and Interventional Radiology* 23: 218-223, 2000
- T. Sekine, T. Nakamura, K. Matsumoto, Y. Liu, H. Ueda, N. Tamura, and Y. Shimizu: Carinal reconstruction with a Y-shaped collagen-conjugated prosthesis. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 119(6): 1162-1168, 2000
- T. Sekine, T. Nakamura, Y. Shimizu, Y. Liu, H. Ueda and K. Matsumoto: Experimental carinal replacement with an Y-shaped collagen-conjugated prosthesis, *Thorac Caridov Surg* 48(3): 125-129, 2000
- K. Matsumoto, K. Ohnishi, T. Kiyotani, T. Sekine, H. Ueda, T. Nakamura, K. Endo, Y. Shimizu: Peripheral nerve regeneration across an 80-mm gap bridged by a polyglycolic acid(PGA)-collagen tube filled with laminin-coated collagen fibers:a histological and electrophysiological evaluation of regenerated nerves. *Brain Research* 868: 315-328, 2000
- T. Nakamura, M. Teramachi, T. Sekine, R. Kawanami, S. Fukuda, M. Yoshitani, T. Toba, H. Ueda, Y. Hori, M. Inoue, K. Shigeno T. Nakahara, Y. Liu, N. Tamura, Y. Shimizu: Artificial trachea and its long-term follow-up after carinal reconstruction in a dog. *International Journal of Artificial Organs* 23(10): 718-724, 2000
- 早川克己, 中村達雄, 清水慶彦: ヨード性造影剤によるカリウム放出における溶血の役割. *臨床放射線*. 45(10): 1230-1231, 2000
- T. Sekine, T. Nakamura, Y. Shimizu, H. Ueda, K. Matsumoto, Y. Takimoto, T. Kiyotani: A new type of surgical adhesive made from porcine collagen and polyglutamic acid. *J Biomed Mater Res.* 54(2): 305-310, 2000
- A. K. Kitahara, Y. Nishimura, Y. Shimizu, K. Endo: Facial nerve repair accomplished by the interposition of

a collagen nerve guide. Journal of Neurosurgery 93(1): 113-120, 2000

◆ 学会等の講演 ◆

- A. Iwakura, Y. Tabata, N. Tamura, A. Ikai, T. Nakamura, Y. Shimizu, M. Fujita, K. Nishiura, M. Komeda:
Gelatin Sheet Incorporating Basic Fibroblast Growth Factor May Improve the Healing of the
Devascularized Sternum. 36th. The Society of Thoracic Surgeons (STS) (2000.1.31-2.2, Florida)
- 岩倉 篤, 田畑泰彦, 田村暢成, 猪飼秋夫, 西村和修, 中村達雄, 清水慶彦, 米田正始: 両側内胸動脈採取後の胸
骨治癒における basic fibroblast growth factor(bFGF) の効果 (一般演題). 第30回日本心臓血管外科学
会 (2000.2.16-18, 東京)
- Y. Yamamoto, T. Nakamura, Y. Shimizu, K. Matsumoto, H. Yokomise: Evaluation of collagen sponge hemo-
stat mixed with oxidized cellulose fibers. 8th Aachen Colloquium on Biomaterials (2000.2. 17-18, 2000,
Aachen, BRD)
- K. Hayakawa, T. Nakamura, Y. Shimizu: Calcium binding by gadolinium compound. European Congress of
Radiology (2000.3.5-10, Austria)
- 清水慶彦: 生分解性ガイドによる神経再生. 第32回日本結合組織学会・シンポジウム「再生医学の最先端」(2000.
5.25, 東京)
- 酒井順哉, 桜井靖久, 中村達雄, 糸満盛憲, 小野哲章: 医療用具の不具合発生の実態と不具合報告の意識に関する
調査研究. 第75回日本医科器械学会大会 (2000.6.1-3, 横浜)
- 岩倉 篤: Basic fibroblast growth factor による両側内胸動脈採取後の胸骨再生強化の試み (特別講演). 第6
回京滋循環器オープンフォーラム (2000.6.8, 京都)
- 岩倉 篤, 米田正始: 虚血性心疾患例はなぜ死亡する? その原因と対策 (外科的立場より). 第89回日本循環器
学会近畿地方会サテライトシンポジウム (2000.6.24, 大阪)
- Y. Liu, T. Nakamura, T. Sekine, K. Matsumoto, H. Ueda, M. Yoshitani, T. Toba, Y. Shimizu: Bioartificial
trachea prepared from tracheal allograft: Maintaining the viability of cartilage is necessary for
immunosuppressant-free tracheal transplantation. 46th Annual conference of the American Society for
Artificial Internal Organs (2000.6.28-7.1, New York)
- Y. Hori, T. Nakamura, Y. Shimizu: Preliminary experiment on in situ tissue engineering of the stomach.
46th Annual conference of the American Society for Artificial Internal Organs (2000.6.28-7.1, New
York)
- K. Matsumoto, K. Ohnishi, T. Sekine, H. Ueda, T. Nakamura, Y. Shimizu: A gelatin coated collagen-
polyglycolic acid(PGA) composite membrane as a dural substitute. 46th Annual conference of
American Society for Artificial Internal Organs (2000.6.28-7.1, New York)
- S. Kawaguchi, T. Nakamura, Y. Shimizu, T. Masuda, T. Takigawa, Y. Liu, H. Ueda, T. Sekine, K.
Matsumoto, T. Toba, M. Yoshitani, Y. Hori: Mechanical properties of mesh-type artificial tracheas.
46th Annual conference of American Society for Artificial Internal Organs (2000.6.28-7.1, New York)
- S. Itoi, T. Nakamura, Y. Shimizu, H. Mizuno: Collagen sponge: As a scaffold of liver regeneration. 46th
Annual conference of American Society for Artificial Internal Organs (2000.6.28-7.1, New York)

- H. Ueda, L. Houg, K. Shigeno, T. Toba, M. Yoshitani, T. Nakamura, Y. Tabata and Y. Shimizu: Biodegradation of Collagen Sponge Incorporating Transforming Growth Factor $\beta 1$. Second Smith & Nephew International Symposium Tissue Engineering 2000 Advances in Tissue Engineering, Biomaterials and Cell Signalling (2000.7.16-19, UK)
- 堀 義生, 中村達雄, 黒川良望, 里見 進, 清水慶彦: 組織工学的手法を用いた胃壁再生の実験的研究. 第55回日本消化器外科学会 (2000.7.20-22, 宮崎)
- 上田寛樹, 洪 流, 茂野啓示, 鳥羽紀成, 吉谷 信, 福田正順, 中村達雄, 田畑泰彦, 清水慶彦: 熱架橋コラーゲンスポンジを用いた TGF- $\beta 1$ のコントロールリリース. 第16回日本 DDS 学会 (2000.7.28-29, 秋田)
- 川口 智, 滝川敏算, 升田利史郎, 中村達雄, 清水慶彦: 人工気管の力学的性質. 第10回高分子材料シンポジウム (2000.8.18, 京都)
- R. Kawanami, R. Amitani, T. Murayama, I. Watanabe, T. Nakamura, Y. Shimizu: Interaction of alkaline protease-sufficient and -deficient isogenic strains of aspergillus fumigatus with human bronchial mucosa in an organ culture model. World Congress on Lung Health (2000.8.30-9.9, Florence)
- Y. Hori, T. Nakamura, Y. Shimizu: Experimental study on tissue engineering of the small intestine. European Society for Artificial Organs XXVII Congress (2000.8.31-9.2, Lausanne)
- T. Nakahara, T. Nakamura, M. Inoue, K. Shigeno, Y. Tabata, Y. Shimizu: Regeneration of the periodontal tissues using collagen sponge plate containing bFGF-gelatin microsphere in dogs. European Society for Artificial Organs XXVII Congress (2000.8.31-9.2, Lausanne)
- T. Toba, T. Nakamura, K. Matsumoto, K. Ohnishi, S. Fukuda, M. Yoshitani, H. Ueda, Y. Hori, M. Inoue, K. Endo, Y. Shimizu: Regeneration of canine peroneal nerve using a polyglycolic acid collagen tube filled with laminin coated collagen sponge. European Society for Artificial Organs XXVII Congress (2000.8.31-9.2, Lausanne)
- T. Nakamura, M. Teramachi, T. Sekine, S. Fukuda, M. Yoshitani, T. Toba, H. Ueda, Y. Hori, M. Inoue, K. Shigeno, Y. Liu, N. Tamura, Y. Shimizu: Artificial trachea and its long term follow up in carinal reconstruction in dog. European Society for Artificial Organs XXVII Congress (2000.8.31-9.2, Lausanne)
- K. Shigeno, T. Nakamura, M. Inoue, H. Ueda, T. Nakahara, Y. Tabata, Y. Shimizu: Reconstruction of mandibular bone defect using of rh-TGF β . European Society for Artificial Organs XXVII Congress (2000.8.31-9.2, Lausanne)
- M. Inoue, T. Nakamura, K. Shigeno, T. Nakahara and Y. Shimizu: Regeneration of the periodontal tissue on acellular matrix using detergent method at allo-teeth-derived implants in dog. European Society for Artificial Organs XXVII Congress (2000.8.31-9.2, Lausanne)
- 野村宗吾, 瀧川敏算, 升田利史郎, 中村達雄, 清水慶彦: イヌの血管の力学特性. レオロジー討論会 (2000.9.25-27, 高知)
- 清水慶彦: 気管の再生. 第9回日本形成外科学会基礎学術集会 (2000.10.6, 名古屋)
- 清水慶彦: 癌の治療と再生医学. 第11回福岡がん懇談会 (2000.10.20, 福岡)
- 岩倉 篤, 洞井和彦, 西村和修, 米田正始, 田畑泰彦, 中村達雄, 清水慶彦: 糖尿病ラット両側内胸動脈採取後の胸骨治癒における basic fibroblast growth factor の効果. 第53回日本胸部外科学会総会 (2000.10.25-27, 大分)

- 岡本 卓, 後藤正司, 杵屋大輝, 中島 尊, 亀山耕太郎, 林 栄一, 山本恭通, 山内清明, 黄 政龍, 横見瀬裕保, 中村達雄, 清水慶彦: BMP-2 徐放ゼラチンスポンジによる自己気管軟骨再生の試み. 第53回日本胸部外科学会総会 (2000.10.25-27, 大分)
- A. Iwakura, Y. Tabata, K. Doi, K. Nishimura, T. Nakamura, Y. Shimizu, M. Komeda: Gelatin Sheet Incorporating Basic Fibroblast Growth Factor Enhances Healing of the Devascularized Sternum in Diabetic Rats. 73rd. American Heart Association (AHA), (2000.11. 12-15, New Orleans)
- Y. Hori, T. Nakamura, Y. Shimizu: Tissue engineering of the small intestine by Mesenchymal Stem Cell Seeding. Third Biennial Tissue Engineering Society international Meeting (2000.11.30-12.3, Orlando, Florida)
- T. Nakamura, Y. Hori, S. Itoi, S. Fukuda, T. Toba, U. Ueda, M. Yoshitani, M. Inoue, T. Nakahara, K. Ohnishi, Y. Shimizu: Collagen sponge scaffold for in situ tissue engineering with mesenchymal stem cell seeding. Third Biennial Tissue Engineering Society international Meeting (2000.11.30-12.3, Orlando, Florida)
- S. Itoi, T. Nakamura, Y. Shimizu, H. Mizuno: In situ tissue engineering for liver regeneration using a collagen sponge scaffold. Third Biennial Tissue Engineering Society international Meeting (2000.11.30-12.3, Orlando, Florida)
- 藤川孝満, 田里 博, 松本和也, 大西克則, 中村達雄, 清水慶彦, 遠藤克昭: PGA-コラーゲンチューブによる末梢神経再生の評価. 日本ME学会関西支部研究会 (2000.12.17, 大阪)

2) 講演・シンポジウム等

- 清水慶彦: 21世紀の医学としての再生医学. 京都右京区医師会 (2000.1.23., 京都)
- 清水慶彦: 教育講演・再生医学の現状. Tissue Engineering の産業展開シンポジウム (2000.3.21, 東京)
- 清水慶彦: 再生組織工学の現状. 第23回日本顔面神経研究会 (2000.6.22, 大阪)
- 清水慶彦: 再生組織工学の現状. 第21回日本炎症学会 (2000.7.5, 東京)
- 清水慶彦: 人体再生—再生医療はどこまでいくのか. 21世紀夢の技術展スペシャルイベント・最先端科学フォーラム — 若きサイエンティストへのメッセージ — (2000.7.27, 東京)
- 岩倉 篤, 田畑泰彦, 榊原 裕, 西村和修, 藤田正俊, 米田正始: 心臓外科21世紀に向けての展望. バイオテクノロジー外科としての心臓血管外科 — 血管新生療法の様々な応用 (パネルディスカッション). 第48回日本心臓病学会 (2000.9.11-13, 大阪)
- 清水慶彦: 癌治療と再生医学. 第5回消化器癌外科フォーラム (2000.11.25, 大阪)
- 中村達雄: 再生医工学の現状と将来. 第8回組織移植医療研究会 (2000.11.25, 神戸)

附属再生実験動物施設

【研究概要】

再生実験動物施設は、再生医科学研究所で実施されている動物実験に関する管理業務（再生研の動物実験計画書の審査に関係する業務、動物実験に関する講習会の開催、再生研西館における実験用マウスの維持、管理など）と共に、研究分野として独自の研究を実施している。

研究テーマとしては、並行して二つの課題に沿った研究を行っている。その一つは、本学産婦人科の藤原浩講師の研究グループ、ウイルス研究所の上田正道先生との共同研究として実施しているものであり、卵巣顆粒膜細胞・黄体細胞に発現する抗原分子を同定することにより、それらの細胞の増殖・分化の制御機構に今まで知られていなかった幾つかの新たな所見を加えた。卵巣顆粒膜細胞は卵と接し、原始卵胞では、これを直接取り囲んでいる一層の扁平な上皮細胞であるが性周期の進行により、幾つかの選ばれた卵胞ではエストロゲン刺激下に急速な増殖を遂げ、排卵と共に急速に黄体細胞に分化しプロゲステロンを産生し、妊娠が生じなかった時は細胞死し、妊娠が生じたときは妊娠黄体細胞として妊娠を維持する。このように細胞の増殖・分化、細胞死が一定の周期をもって繰り返されているユニークな細胞である。我々はこれまでに、これらの細胞に特異的に発現する抗原分子を見い出すため、上記の細胞で免疫、単クローン抗体を多数作成し、細胞膜結合型ペプチダーゼであるアミノペプチダーゼN、ジペプチジルペプチダーゼIV、カルボキシペプチダーゼM、エンドセリン変換酵素-1が卵巣細胞の分化抗原であることを報告してきた。そして細胞膜結合型ペプチダーゼが局所のタンパクやサイトカインなどの濃度を調節することによって卵巣機能に重要な役割を果たしている可能性を指摘してきた。また integrin $\alpha 2,5,6$ および integrin の機能を調節するといわれている CD9 や integrin associated protein もまた卵巣細胞の分化抗原であり卵巣機能に関与していることも報告してきた。これらの分子に加えて、肝臓において解毒物質として作用している epoxide hydrolase がヒト卵巣に発現しており、ステロイド産生に関与していることを報告した。これらの研究成果は1991年以来、既に40報を超える論文として専門誌に発表してきた。

これらの研究に並行して、近年、我々は絨毛外絨毛細胞（extravillous trophoblast: EVT）に特異的に発現する抗原分子の解析を行っている。着床後、胚由来の絨毛細胞は絨毛上皮を構成する villous trophoblast と絨毛の先端から母体脱落膜へ向かい子宮筋層にまで達する EVT とに分かれる。EVT の機能としては、母体血管を浸食することにより母胎間のガス・物質交換の場である絨毛間腔への母胎血の流入を制御していることが推察されているが、その詳細な機能は未だ不明な点が多い。EVT は母体側への浸潤する過程で様々な形態をとり、その浸潤様式は癌細胞の浸潤様式と類似していることが近年指摘されつつあるが、EVT の母体側への浸潤は子宮筋層の1/3までで停止しており、その浸潤停止機構は不明である。よって、この EVT の浸潤および浸潤停止機構の解明によって、妊娠成立・維持の機構が明らかにされるだけでなく、癌浸潤・転移阻止機構の新たな知見を得ることができると考えられる。そのため我々は、EVT に特異的に発現する分子を同定する目的で、EVT を含む組織をマウスに免疫し単クローン抗体を作成した。その結果、未知の分子を含めていくつかの EVT に特異的に発現する分子を同定することに成功し、現在その機能を含めて詳細を検討中である。

第二の研究課題として、ヒトT細胞のヒト・レトロウイルス（HTLV-1）感染による悪性化増殖獲得機構の研究を行っている。T細胞は言うまでもなく免疫応答を制御する極めて重要な細胞である。エイズ（AIDS）ウイルスは

CD4 陽性のT細胞を標的として、これに感染しT細胞を破壊し免疫機能を破綻させヒトを死に追いやる。また、T細胞の増殖因子である interleukin-2,-4,-7,-9,-15 による増殖シグナル伝達に共通して必須である受容体構成分子であるX染色体上にある common γ chain 遺伝子に変異が生じ、機能しなくなることによりT細胞が増殖せず免疫不全症が生じることも明らかになってきた。これらの研究は、HTLV-1 感染により発症することが強く示唆されている成人T細胞白血病(ATL)細胞に異常発現している interleukin-2 受容体 α 鎖の研究にその発端を求めることができる。本課題では、ヒト・レトロウイルス(HTLV-1)に感染したT細胞が40-50年の経過を経て悪性化増殖能を獲得し白血病細胞となり、成人T細胞白血病(ATL)を発症する機構を細胞培養を基盤に置き、分子生物学的な方法を用いて解析している。HTLV-1 に感染しているヒトT細胞は IL-2 受容体を常時発現しており、IL-2 が存在すれば感染細胞の多くは持続的に増殖し IL-2 依存性T細胞株となる。我々は既に5株の白血病細胞株を含め50株以上の IL-2 依存性T細胞株を樹立してきた。それらの内の幾つかは長期間培養中に IL-2 依存性を離脱し IL-2 非依存性T細胞株となり、さらにその一部ではヌードマウスや SCID マウスで腫瘍を形成するようになった。このような観察結果から、HTLV-1 感染T細胞は、IL-2 依存性増殖相 \Rightarrow IL-2 非依存性増殖相(不死化) \Rightarrow 造腫瘍能の獲得という段階的な増殖性の進展が生じて悪性化細胞となると考えている。現在、種々のT細胞増殖因子を含め、増殖因子が白血病成立にオートクリン増殖機構などで関わっている可能性も視野にいれ、上記の段階的なT細胞の増殖性の変化が如何なる遺伝子の変化に基づいているかを調べている。現在、造腫瘍能獲得に至る各段階で変化している mRNA/cDNA を random primer を用いた differential display 法と DNA microarray 法により検出、同定し、悪性化増殖と密接に関連している遺伝子の同定を始めている。この課題は遺伝子実験施設の清水教授との共同研究として行っている。

我々の樹立したT細胞株は非常に有用であり、これらの細胞を用いて、チオレドキシン遺伝子、ヒト IL-4 等の遺伝子が単離されており、T細胞の増殖シグナル伝達の研究にも活用されている。さらに、これらのT細胞株から、新しい生理活性物質の同定が期待されるばかりでなく、悪性化転換したT細胞の解析から、正常T細胞の重要な生理機能の解明も期待される。

In our laboratory, we have been involved in two independent research projects. One of our research objectives is to find out molecule(s) physiologically involved in the growth and differentiation of female reproductive organs and tissues, namely human ovarium and endometrium, which are characterized by their periodic repetitions of growth, differentiation and cell death. This research project has been started in 1991 and has been studied in collaboration with Dr. Hiroshi Fujiwara of the Department of Gynecology and Obstetrics of Kyoto university Medical School and Dr. Masamichi Ueda of Institute for Virus Research, Kyoto University. To find out unknown molecules that are expressed in these tissues, we produced monoclonal antibodies against different kinds of cells constituting these tissues and have identified several important differentiation antigen molecules, such as several metallo-peptidases, integrins, MHC class II molecules and some non-identified molecules, which play possibly important physiological role(s). Now we have been trying to produce monoclonal antibodies against trophoblasts, which play important role(s) during fetal development, to investigate the molecular events in materno-fetal interface. Results of these projects have been published in more than 40 research papers in major medical journals.

Another project is to elucidate the mechanism of the malignant transformation of the human retrovirus HTLV-1-infected normal T cells (Adult T cell leukemia : ATL) and we have been engaged in the study these

twenty years. HTLV-1 infected normal T cells appeared to express the interleukin 2(IL-2) receptor constitutively, and they often became to proliferate indefinitely in vitro in the presence of IL-2. Based on these initial findings we have established more than fifty HTLV-1-infected T cell lines, including 5 leukemic T cell lines from ATL patients by using IL-2 as a growth factor. Some of them began growing without exogenous IL-2(immortalization), and further acquired tumorigenicity in immune deficient nude mice and SCID mice. From these observations we proposed a stepwise growth progression hypothesis for ATL pathogenesis. Now we have been working to elucidate the molecular events underlining malignant transformation of HTLV-1-infected T cells by using many T cell lines established in our laboratory.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Nishimura M., Maeda M., Matsuoka M., Mine H., Saji H., Matsui M., Kuroda Y., Kawakami H., and Uchiyama T: Tumor necrosis factor, tumor necrosis factor receptors type 1 and 2, lymphotoxin- α , and HLA-DRB1 gene polymorphisms in human T-cell lymphotropic virus type 1 associated myelopathy. *Human Immunol.*, 61: 1262-1269, 2000.
- Hattori N., Fujiwara H., Maeda M., Fujii S., and Ueda M: Epoxide hydrolase affects estrogen production in the human ovary. *Endocrinol.*, 141: 3353-3365, 2000.
- Park K. R., Inoue T., Ueda M., Hirano T., Higuchi T., Maeda M., Konishi I., Fujiwara H., and Fujii S: CD9 is expressed on human endometrial epithelial cells in association with integrins $\alpha 6$, $\alpha 3$ and $\beta 1$. *Mol. Hum. Reprod.* 6: 252-257, 2000.
- Nosaka K., Maeda M., Tamiya S., Sakai T., Mitsuya H., and Matsuoka M: Increasing methylation of the CDKN2A gene is associated with the progression of adult T cell leukemia. *Cancer Res.* 60: 1043-1048, 2000.

◆ 学会等の講演 ◆

- Fujiwara H., Nakamura K., Yoshioka S., Yamada S., Maeda M., and Fujii S: Bestatin, an inhibitor of aminopeptidase N, enhanced follicular growth in mice. International Conference on Cell Surface Aminopeptidases, (2000.8.15-18. Nagoya)
- Yoshioka S., Fujiwara H., Tatsumi K., Nakayama T., Higuchi T., Inoue T., Yamada S., Maeda M., and Fujii S: Endothelin-converting enzyme-1 is expressed on human ovarian follicles and corpora lutea of menstrual cycle and early pregnancy. International Conference on Cell Surface Aminopeptidases (2000.8.15-18. Nagoya)
- Suzuki Y., Zhang F., Maeda M., and Ishimoto A: Virological studies of SL-strain mouse. 12th International Workshop on Retroviral Pathogenesis, (2000.10.29. Annapolis)

武田 哲, 前田道之, 野坂生郷, 松岡雅雄: Tax 非発現 ATL 細胞株における p53 不活性化機構. 第51回日本癌学会総会 (2000.10.5, 横浜)

西山 晃, 増谷 弘, 前田道之, 西中由美子, 細井文仁, 淀井淳司: HTLV-1 感染細胞での IL-2 依存性増殖におけるチオレドキシン結合タンパク質 TBP-2 の解析. 第51回日本癌学会総会 (2000.10.5, 横浜)

西中由美子, 西山 晃, 増谷 弘, 前田道之, 中村 肇, 巽 英二, 淀井淳司: HTLV-1, EBV 感染細胞におけるチオレドキシン結合タンパク質 TBP-2 の発現. 第30回日本免疫学会総会学術集会 (2000.12.14, 仙台)

4. 学術集会

4-1 再生医科学研究所シンポジウム

「再生医学研究 21世紀への飛躍」(2000.1.22 京大会館)

開会挨拶	再生医科学研究所長	山岡 義生
トピック1 — 分化・増殖制御による有用細胞の産生 — ES細胞と生殖系列細胞の発生分化と再生医学	再生医科学研究所教授 再生医科学研究所教授	中辻 憲夫 笹井 芳樹
試験管内神経分化系の再生医学的展望		
特別講演 核の分化全能性の誘導によるクローン動物の作出	近畿大学農学部教授 医学研究科教授	角田 幸雄 西川 伸一
発生学と再生医学 — 行程と工程		
トピック2 — 組織・臓器レベルでの再生研究フロンティア — 肝細胞増殖因子(HGF)遺伝子を用いた血管新生 Cartilage Repair (軟骨の修復) 再生医科学研究所教授 生体内における自己組織・自己臓器の再生誘導 スーパーバイオミメティックスとしての肝臓組織工学	大阪大学大学院医学研究科助教授 再生医科学研究所教授 東京工業大学大学院生命理工学研究科教授	森下 竜一 岡正 典彦 清水 慶彦 赤池 敏宏
閉会挨拶	再生医科学研究所教授	永田 和宏

4-2 セミナー

日時	演者 所属	演題	セミナー名	主催分野
2000. 1.17.	佐渡 敏彦 大分看護科学大学	胸腺リンパ腫発症の機構	免疫学セミナー	再生免疫学
2000. 1.26	永淵 昭良 京都大学医学研究科	細胞の形態・移動・増殖を制御するカドヘリン・カテニン複合体,	再生医科学研究所 セミナー	再生誘導
2000. 1.28	西脇 清二 NEC 基礎研究所	細胞の移動方向を調節する分子機構	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導
2000. 2. 2	瀬原 淳子 都立臨床研	筋形成とメタロプロテアーゼ・ディスインテグリンファミリー	再生医科学研究所 セミナー	再生誘導
2000. 2. 8	小出 武比古 姫路工業大学理学部生命科学	小胞体における新生糖タンパク質の品質管理機構—異常タンパク質の選択的分解と糖鎖プロセッシングの重要性—	第85回細胞生物学 セミナー	細胞機能調節学
2000. 2.10	森 和博 新潟大学理学部	ヒト血液幹細胞を如何にして増殖させるか 2. 冬眠遺伝子の生物学的役割と意義について	再生医科学研究所 セミナー	動物施設
2000. 2.18	後藤 聡 国立遺伝研	形作りの分子機構	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導
2000. 2.18	仲野 徹 大阪大学微生物病研究所	ES細胞から血液細胞への分化誘導—基礎研究から再生医学へ—	再生医科学研究所 セミナー	動物施設
2000. 2.15	垣塚 彰 大阪バイオサイエンス研究所	神経変性疾患発症の分子メカニズム：神経変性疾患は異常蛋白質の蓄積症か？	第86回細胞生物学 セミナー	細胞機能調節学

日時	演者 所属	演題	セミナー名	主催分野
2000. 2.22	今井 俊夫 カン研究	リンパ球サブセットにおける ケモカインレセプターの発現	特別セミナー	再生免疫学
2000. 3. 7	林 利彦 東京大学大学院総合文化研究	コラーゲンタンパク質の機能	第87回細胞生物学 セミナー	細胞機能調節学
2000. 3. 9	B. Malissen Centre d'Immunologie NSERM-CNRS		免疫学セミナー	再生免疫学
2000. 3.10	日比 正彦 大阪大学医学研究科	ゼブラフィッシュにおける体軸形成の 分子機構	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導
2000. 3.10	高橋良哉 東邦大学薬学部	老化促進モデルマウス (SAM) P 8 系と R 1 系の脳における遺伝子発現の 加齢変化	老化生物学セミナー	再生誘導
2000. 5. 8	田村 宏治 東北大学理学部	脊椎動物の四肢再生の分子メカニズム	細胞工学・再生生物 学セミナー	再生誘導
2000. 5.12	今井眞一郎 マサチューセッツ工科大学	エネルギーセンサー Sir2 の機能と 老化メカニズム	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導
2000. 5.19	桑名 貴 国立水俣病総合研究センター	ウズラにハトを生ませる	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導
2000. 5.22	Dr. Neil Bulleid University of Manchester, UK	The role of molecular chaperones in procollagen biosynthesis	第88回細胞生物学 セミナー	細胞機能調節学
2000. 6. 2	武田 全弘 Northwestern Univ. 藤沢薬品つくば研究所	Role of interaction between Hsp70 and Bag1 in regulation of apoptosis	第89回細胞生物学 セミナー	細胞機能調節学
2000. 6. 7	蓬田健太郎 大阪大学微生物病研究所	生殖幹細胞系をモデルとした幹細胞の 特質の解析	第90回細胞生物学 セミナー	細胞機能調節学
2000. 6. 9	須田 年生 熊本大学発生医学研究センター	幹細胞生物学のなかの造血幹細胞	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導
2000. 6.12	野口 悟 国立精神神経センター	サルコグリカン症の遺伝子と発症機序	細胞工学・再生生物 学セミナー	再生誘導
2000. 6.16	小川峰太郎 京都大学医学研究科	E S細胞からの血液・血管系の再構成	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導
2000. 6.23	Dr. Willem van Eden Utrecht University, The Netherlands	Heat shock proteins as targets for regulatory T cells that control autoimmune arthritis	第91回細胞生物学 セミナー	細胞機能調節学
2000. 7. 3	小阪美津子 倉敷成人病センター	再生現象から考える細胞分化の安定性	細胞工学・再生生物 学セミナー	再生誘導
2000. 7.10	岩本 亮 大阪大学微生物病研究所	膜結合型増殖因子 HB-EGF による ジャクスタクライン	細胞工学・再生生物 学セミナー	再生誘導
2000. 9.18	瀬原 淳子 京都大学再生医科学研究所	筋形成とその分子制御機構	細胞工学・再生生物 学セミナー	再生誘導
2000. 9.19	A. G. Farr Washington Univ.	Signals required for thymic organization	免疫学セミナー	再生免疫学
2000. 9.19	W. van Ewijk Erasmus University Rotterdam	Composition of thymic microenvironments is determined by crosstalk signals and oxygen pressure	免疫学セミナー	再生免疫学
2000. 9.25	田中 誠 京都大学医学研究科	心臓発生の分子メカニズム	細胞工学・再生生物 学セミナー	再生誘導
2000.10.10	V. J. Cristofalo Lankenau Medical Center	What have we learned about aging from human cell culture	老化生物学セミナー	再生誘導

日時	演者 所属	演題	セミナー名	主催分野
2000.10.16	Dr. Bernd Bukau Albert-Ludwigs-University Freiburg, GERMANY	Role of chaperones in protein folding in the cytosol	第92回細胞生物学 セミナー	細胞機能調節学
2000.10.27	河崎 洋志 京都大学再生医科学研究所	胚性幹細胞からの新しい神経分化誘導 法	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導
2000.11.10	R. Boyd Monash University	The cellular and molecular basis to the thymic microenvironment	免疫学セミナー	再生免疫学
2000.11.17	笹井 紀明 京都大学再生医科学研究所	神経堤細胞の分子決定の分子機構	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導
2000.12. 1	松崎 文夫 東北大学加齢医学研究所	神経幹細胞の非対称分裂	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導
2000.12. 8	里 直行 シカゴ大学	心臓と脳の変性疾患の分子病態解析	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導
1999.12.15	清水 千織 千葉大学医学研究科	lck proximal promoter の活性調節 と細胞周期	免疫学セミナー	再生免疫学

4 - 3 研究発表会

第14回医工学若手研究発表会 (2000.3.15)

発表者	所属	演題
1. 山本雅哉	組織修復	骨形成因子の徐放化による異所性骨形成
2. 大脇久敬	組織修復	血管形成術後再狭窄防止を目的としたアルガトロバン徐放ステントの開発
3. 保坂泰介	組織再生	粘液型脂肪肉腫の TLS-CHOP 融合遺伝子形成における Translin の関与
4. 津田裕子	シミュレ	カナダ・ウォータールー大学における交換留学体験報告
5. 大田克則	臓器再建	crush 傷害軽減の試み
6. 木下直子	器官形成	Genetic Engineering using MIN6
7. 山本博史	組織再生	キメラマウスを用いた RB(-/-) 骨芽細胞様細胞系の樹立
8. 村上能庸	組織修復	ポリアクリル酸と補体との相互作用の解析
9. 関根隆	臓器再建	Y型人工気管による気管分岐部置換の試み
10. 松村和明	シミュレ	エチレン-ビニルアルコール共重合体を用いたハイブリッド型人工歯根の開発
11. 許宝友	器官形成	1) Functional comparison between the Agarose microbeads and developing three layer Agarose microbeads as the Bioartificial Pancreas: An In vitro Study 2) Feasibility of developing three layer Agarose microbeads with xenogeneic islets as a bioartificial pancreas in dog
12. 岩倉篤	組織修復	bFGF による両側内胸動脈採取後の胸骨治癒促進の試み
13. 福田正順	臓器再建	肺機能評価法
14. 太田信	シミュレ	人工膝関節用 UHMWPE の配向結晶化による耐摩耗性の向上
15. 崔万興	器官形成	脾島の皮下移植に関する研究
16. 青山輝義	組織修復	腎組織再生への条件の検討
17. 吉田宏昭	シミュレ	"Dog ear" 低減のための皮膚縫合手術シュミレーション
18. 糸井真一	臓器再建	生体内コラーゲンスポンジ埋込による肝再生
19. 谷井和宏	組織再生	イス用人工椎間板の力学的評価
20. 上田寛樹	臓器再建	アテロコラーゲンスポンジからのトランスフォーミング増殖因子 β_1 (TGF- β_1) 徐放性
21. 高寅甲	組織修復	セルロース中空糸を用いた3次元組織の再構築
22. 西浦淳	組織再生	高濃度 PVA に関する研究
23. A. John	組織修復	Effect of bFGF on rat primary stem cells
24. 劉愉	臓器再建	Detergent 処理による低免疫原性の気管グラフトの作成
25. 洪流	組織修復	骨髄細胞を用いた頭蓋骨欠損部再生に及ぼす徐放化 TGF- β_1 の効果
26. 大幡里絵	医用シス	多孔質膜中イオン透過に対する静磁場の影響
27. 当麻直樹	組織修復	nitinol coil の開発
28. 長澤貴司	生体機械	膝関節の半月板の挙動に関する研究
29. 中原貴	臓器再建	歯周組織の再生
30. H. Hosseinkhani	組織修復	Enhancement of gene tranfection by ultrasound
31. Y. Al-Abdullat	シミュレ	Possibilities of magnesium as a new biomaterial
32. 志賀一喜	組織修復	ポリ(L-乳酸)表面へのアクリル酸のグラフト重合

発表者	所属	演題
33. 河南里江子	臓器再建	Aspergillus fumigatus の遺伝子変異株を用いたヒト気管支に対する病原性の検討
34. 平田伊佐雄	組織修復	窒化シリコン膜の細胞接着性の付与
35. 御守直樹	医用シス	人工膝関節用超高分子量ポリエチレンのデラミネーション破壊に及ぼす諸因子
36. 石井倫裕	組織修復	ヒト脂肪前駆細胞の in vitro での増殖と分化
37. 吉谷信	臓器再建	気管異種移植の試み
38. 尾関真	組織修復	ゼラチンハイドロゲルを用いた肝細胞増殖因子の徐放化
39. 光成淳史	組織再生	骨粗鬆症による海綿骨の構造変化と破壊挙動について
40. 上田勇一郎	組織修復	バイオ人工肝灌流培養時のアミノ酸代謝
41. 王文敬	器官形成	マイクロカプセル型バイオ人工膝の機能に対する塩基性繊維芽細胞増殖因子 (bFGF) の影響について: In vitro における検討
42. 徐慎之	医用シス	ラット大腿骨骨密度への静磁場の影響
43. 高須康弘	組織修復	脳神経外科用マイクロカテーテルの開発
44. 渡邊雄祐	組織再生	関節軟骨最表層の構造と潤滑
45. 仲瀬裕志	組織修復	1L-10 含有ゼラチンマイクロスフェアを用いた炎症性腸疾患治療の試み
46. 井上祐利	組織再生	p53 ノックアウトマウスからの軟骨細胞培養
47. Md. Muniruzzaman	臓器再建	歯根膜再生型人工歯根の開発
48. 長田奈津紀	組織修復	Complexation behavior of plasmid DNA with cationized gelatin for gene delivery
49. 松本和也	器官形成	細胞外マトリックス存在下における膵島のインスリン分泌機能の評価
50. 牛尾康	臓器再建	人工神経チューブによるイヌ末梢神経再生部の組織学・形態学的評価
51. 茂野啓示	組織再生	イヌ大腿骨頭部分的表面置換術——術後1年の評価——
52. 世本敏高	臓器再建	前頭洞 (イヌ) 内への骨再生について (予)
53. 原田恭治	生体機械	カテーテル挿入抵抗の計測
54. 堀洋	医用シス	高速荷重下における関節軟骨の破壊に関する研究
55. 堀義生	器官形成	ブタ膵臓内分泌細胞の分離と機能
56. 杉之下与志樹	臓器再建	コラーゲンスポンジを用いた消化管再生の試み
57. 金度勲	組織修復	金属配位結合を介したプルランによるインターフェロンの肝へのターゲティング
58. 顧元駿	シミュレ	Reconstruction of capillary network using an extracellular matrix in vivo
59. 岡千晶	器官形成	糖尿病ラットの皮下血管誘導法に関する検討
60. 長山聡	シミュレ	シートベルト損傷に関する力学解析
61. 東高志	組織再生	びまん浸潤大腸癌における TGF- β receptor type II 発現低下の分子生物学的検討
62. 福田秀章	シミュレ	超高速 MRI による顎運動解析
63. 鳥羽紀成	組織再生	イヌ腰椎人工椎間板の FEM 解析
64. 中井隆介	臓器再建	イヌ座骨神経におけるコラーゲンスポンジ型人工末梢神経の置換手術
65. A. N. balamurugan	シミュレ	咀嚼力による顎顔面骨のリモデリングシミュレーション——古代から未来への顔の予想——
66. 岸上義弘	器官形成	Intermuscular islet transplantation
67. 村上弘	臓器再建	犬の大腿骨骨幹部の骨再生
68. 野口哲哉	組織再生	骨芽細胞の悪性化に係わる新規遺伝子のクローニング
69. 下岡豊	臓器再建	コラーゲンスポンジを用いた尿路壁再生の試み
70. 姜有	組織修復	中空系モジュールを用いた大量細胞移植の検討
71. 慕鷹	シミュレ	UHMWPE の酸化劣化による分子運動の変化
72. 柳原裕	医用シス	チタン合金微粒子皮下埋込による各金属元素の体内分布に関する研究
73.	組織修復	心不全に対する心筋細胞移植の実験

4-4 学術講演会・シンポジウム・研究会

医工学フォーラム (2000.2.16, 京大会館, 主催 医工学フォーラム 筏 義人)

1. バイオ人工肝臓の試作とその機能評価

岩田博夫, 上田勇一郎, Paek, Hyun Joon, 下岡 豊, 高 寅甲¹, 山岡義生, 猪飼伊和夫, 竹山 治², 筏 義人³ (組織修復材料学分野, ²医学研究科・消化器外科学, ³鈴鹿医療科学大学)

2. Sensible Human Project における MR Elastography (MRE) による in vivo 弾性率測定

堤 定美, 玄 丞然, 南部敏之¹, 高橋 隆, 松田哲也, 小森 優², 湊小太郎, 菅 幹生³ (シミュレーション医工学分野, ²医学研究科・医療情報部, ³奈良先端科学技術大学院大学・情報科学センター)

3. 膝関節の力学機能とその再現

4. Total Knee Regeneration

5. 生体内での自己組織、臓器の再生

6. 糖尿病治療のための再生医学

7. 人工椎間板の開発

池内 健, 関戸 宏, 日下 純, 長澤貴司¹, 富田直秀² (生体機械工学分野, ²医用システム工学分野)

富田直秀, 原田恭治, 慕 鷹¹, 池内 健², 岩田博夫³, 岡 正典⁴, 筏 義人⁵, 青山栄一, 御守直樹, 山本浩司⁶, 玉井 進, 山岡茂雄, 小泉宗久, 平岡修治, 日吉信之, 石本佳之, 門野邦彦⁷, 脇谷滋之⁸, 柴田延幸⁹, 大橋美奈子¹⁰ (生体機械工学分野, ²医用システム工学分野, ³組織修復材料学分野, ⁴組織再生応用分野, ⁵鈴鹿医療科学大学, ⁶同志社大学, ⁷奈良医大整形外科, ⁸国立大阪南病院, ⁹産業医研, ¹⁰大阪産業大学)

清水慶彦, 中村達雄, 堀 義生, 岸上義弘, 藤澤直子, 松本和也, 関根 隆, 李 永浩, 津田 透, 上田寛樹, 吉谷 信, 鳥羽紀成, 糸井真一, 川口 智, 茂野啓示, 中原 貴, 大西克則¹, 鈴木義久, 西村善彦², 井上祐利, 飯塚忠彦³, 遠藤克昭⁴, 野口哲哉, 青山輝義, 小川 修⁵, 田村暢成, 寺井 弘, 岩倉 篤, 米田正始⁶ (臓器再生応用分野, ²医学研究科・形成外科学, ³医学研究科・口腔機能病態学, ⁴医学研究科・高次脳科学講座, ⁵医学研究科・泌尿器病態学, ⁶医学研究科・心臓血管外科学)

宮本正章, 顧 元駿, 堀 洋, 長田奈津紀, Balamurugan A, 王 文敬, 森元良彦, 佐竹 晃, 野澤由香, 野澤真澄, 井上一知¹, 川上義行, 木下直子, 山崎 透, 許 宝友, 崔 万興, 今村正之², 玄 丞然, 金 度勲³, 清野 裕⁴, 岩田博夫, 田畑泰彦, 村上能庸⁵, 筏 義人⁶ (器官形成応用分野, ²医学研究科・腫瘍外科学, ³シュミレーション医工学分野, ⁴医学研究科・病態栄養, ⁵組織修復材料学分野, ⁶鈴鹿医療科学大学)

岡 正典, P. Kumar, 由良茂人, 戸口田淳也¹, 玄 丞然², 中村孝志³ (組織再生応用分野, ²シュミレーション医工学分野, ³医学研究科・整形外科)

特別講演

知的財産権の活用に向けて——大学へ期待するもの—— 近藤隆彦 (通商産業省特許庁長官・京都大学客員教授)

第8回細胞療法研究会主催 (2000.4 京都, 当番世話人 器官形成応用分野 井上一知)

第10回 Kyoto T Cell Conference (2000.6.16-17 京大会館, 主催 再生免疫学)

Session I Progenitors

座長: 中内啓光

1. Myeloid-erythroid 系および myeloid-lymphoid 系列への分岐

勝部好裕, 陸 敏, 伊川友活, 桂 義元, 河本 宏 (京大・再生研・再生免疫)

2. Adult thymus 中の T 前駆細胞の分化増殖能

陸 敏, 河本 宏, 伊川友活, 勝部好裕, 桂 義元 (京大・再生研・再生免疫)

3. Lck proximal promoter 活性の発現と T 細胞系列へのコミットメント

清水千織¹, 河本 宏², 桂 義元³, 中山俊憲⁴ (千葉大院・免疫発生, 科技団・CREST, ²京大・再生研・再生免疫)

Session II 遺伝子再構成

座長: 生田宏一, 阪口薫雄

1. Stat5 と転写共役因子による TCR γ 遺伝子座の accessibility 調節機構

Ye Sang Kyu¹, 李 海天², 縣 保年³ (京大・医・分子生物, ²京大・遺伝子実験施設)

2. Stat5 によるヒト TCR γ 遺伝子座の germline 転写誘導機構

李 海天, Ye Sang Kyu, 生田宏一 (京大・医・分子生物)

3. $\gamma \delta$ T 細胞における T 細胞レセプターの再構成の順序

高垣洋太郎¹, 渡邊真理子², 川村宏樹³, 山田俊治⁴, 清水実嗣⁵ (北里大医・分子生物, ²新潟大医・実験動物, ³農水家衛試)

4. Coordinated and ordered rearrangement of TCR α chain genes: Role of secondary rearrangement of TCR α chain in the formation of functional T cell repertoire

Osami Kanagawa (Department of Pathology, Washington University School of Medicine)

5. T 細胞分化過程における TCR β enhancer (E β) の機能的意義

妹尾 誠¹, 餅田尚子², 真貝洋一³, 垣生園子⁴ (東海大・医・免疫, ²京大・ウイルス研・信号伝達)

6. A role for genomic imprinting in allelic exclusion during TCR- β V-D-J rearrangement
7. TCR β 鎖の対立遺伝子排除はインプリンティング現象ではない——350kb deletion mouseを用いて——

Session III 胸腺／胸腺外環境

1. マウス腸管粘膜に散在する B220⁺ リンパ球小集積の解析
2. マウス胸腺上皮細胞株の MHC class II 複合体から分離される CLIP のモチーフと MHC class II 拘束性抗原提示における Ii 鎖のプロセッシングについて
3. ナーシング胸腺上皮細胞 (TEC) の貪食能について
4. 胸腺上皮細胞の産生する Glia maturation factor (GMF) により未熟胸腺細胞の分化は CD4⁺ CD8⁻ 亜集団側にシフトする

Session IV 転写因子と分化／機能発現

1. トランスジェニックマウスを用いた T 細胞における Bcl6 の機能解析
2. IL-5 遺伝子発現制御における Bcl6 の機能解析
3. マウス胸腺リンパ腫において Ikaros は複数のメカニズムで不活化されている
4. Bcl-2 を過剰発現させた IRF-1 欠損マウスにおける CD8⁺ T 細胞分化の回復
5. AML1 転写による胸腺 T 細胞分化の制御
6. 胸腺分化における転写因子 AML1 の役割

Session V NK/NKT細胞

1. 卵白アルブミン特異的 I-Ad 拘束性 TCR トランスジェニックマウス (Tgm) のクロノタイプ陽性 NKT 細胞は何を認識するか
2. Class I 拘束性 TCR transgenic マウス (Tgm) における NKT 細胞の産生
3. 胸腺前駆細胞の NK 系列への分岐と T 細胞への分化能
4. 胸腺 T 前駆細胞の NK/DC への分化能

Session VI 胚中心

1. 胚中心 B 細胞制御に関わる分子
2. CD40L を介するシグナルによるトレランスおよび胚中心内レパトリー選択の調節機構

Session VII 正・負の選択

1. 胸腺細胞の CD4⁺ CD8⁺ から CD4⁺ CD8⁻ への分化における CD5 の役割
2. T 細胞の胸腺分化における Cdk2 の関与
3. ポジティブセレクションにおいて c-Fos 翻訳能と翻訳開始因子 eIF-4E の発現は相関する

Y. Takahama¹, T. Sugawara¹, M. Tada², Y. Tokoro³ (¹ Div. Expt. Immunol., Inst. Genome Res., Univ. Tokushima, ² Inst. Frontier Med. Sci., Kyoto Univ., ³ Grad. Sch. Med. Sci., Univ. Tsukuba)

王 莉莉¹, 妹尾 誠¹, 真貝洋一², 垣生園子¹ (¹ 東海大・医・免疫, ² 京大・ウイルス研・信号伝達)

座長： 広川勝彦

浜田裕公^{1,2}, 廣井隆親³, 清野 宏³, 山元 弘³, 石川博通¹ (¹ 慶大・医・微生物, ² 阪大・薬・細胞生理, ³ 阪大・微研・免疫化学)

笠井道之, 水落利明 (感染研・細菌血液製剤)

平峯千春¹, 井町仁美², 村尾孝児², 中川利孝³ (香川医大・¹ 健康科学, ² 1 内, ³ 機器セ)

宇津山正典, 広川勝彦 (東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・分子免疫病理)

座長： 徳久剛史, 佐竹正延

市井啓仁^{1,2}, 小島聡子¹, 有馬雅史^{1,3}, 外山博近^{1,3}, 岡田誠治¹, 幡野雅彦¹, 徳久剛史¹ (¹ 千葉大院・医・分化制御, ² 神戸大院・医・外科 1, ³ 獨協医大・アレルギー内科)

有馬雅史^{1,2}, 外山博近^{1,3}, 岡田誠治¹, 幡野雅彦¹, 福田 健¹, 徳久剛史¹ (¹ 千葉大院・医・分化制御, ² 獨協医大・呼吸器アレルギー内科, ³ 神戸大院・医・外科 1)

柿沼志津子, 島田義也 (放射線医学総合研究所)

樗木俊聡, 牧稚佳子, 小安重夫 (慶應大学・医学部・微生物学)

林啓太郎, 阿部奈津美, 夏目和歌, 佐竹正延 (東北大・加齢研)

佐藤健人¹, 布村 聡¹, 林啓太郎², 佐竹正延², 垣生園子¹ (¹ 東海大・医・免疫, ² 東北大・加齢研)

座長： 小野江和則, 河本 宏

岩渕和也, 岩渕千雅子, 小野江和則 (北大・遺伝子病制御研・免疫応答)

大渡隆一郎, 岩渕千雅子, 岩渕和也, 小野江和則 (北大・遺伝子病制御研・免疫応答)

伊川友活, 沈 恵卿, 河本 宏, 桂 義元 (京大・再生研・再生免疫)

沈 恵卿, 伊川友活, 河本 宏, 桂 義元 (京大・再生研・再生免疫)

座長： 鐔田武志

桑原一彦, 藤村 睦, 阪口薫雄 (熊本大学・医・免疫学)

饒場祐一, 樋口哲也, 鐔田武志 (東京医歯大・難研・免疫)

座長： 高浜洋介, 小安重夫

周 旭宇, 八城有美, タイ旭光, Park Cheung Seog, 浜岡利之, 藤原大美 (大阪大・医・バイオセ)

高山哲朗, 鈴木春巳, 小安重夫 (慶應義塾大・医・微生物学)

布村 聡, 佐藤健人, 垣生園子 (東海大・医・免疫)

4. ヒト胸腺T細胞に対するPMA/ionomycinの効果
5. 胸腺細胞のアポトーシスにおけるCyclophilin Bの役割
6. 自己免疫疾患を呈するPTEN変異マウスの解析
— T細胞特異的PTEN変異マウスを用いて

Session VIII 抗原認識シグナル

1. T細胞活性化と膜脂質マイクロドメイン(GEM)
I. 活性型SHP-1のGEMへの集積によって制御されるシグナル伝達反応
2. T細胞活性化と膜脂質マイクロドメイン(GEM)
II. GEMにおけるLck及びFynの活性の変化
3. ヒト $\gamma\delta$ 型T細胞の抗原認識機構および抗腫瘍作用の解析
4. TCR β CDR3に非依存的なT細胞の抗原認識
— HIVenv特異的TCR-Tgにおける解析 —

Session IX 分化・活性化に関連する機能分子

1. 胸腺T細胞の移動におけるケモカインの役割
2. CD69のT細胞分化における役割
3. LFA-1/DNAM-1複合体によるIL-12非依存性Th1分化誘導性
4. ヒトリンパ球におけるBcl-2 family (Bcl-2, Bcl-x, Bax, Bak, Bim)の検討
5. 未熟胸腺細胞に発現する新規遺伝子RITのクローニング
6. レトロウイルスライブラリーを用いた新たなリンパ球活性化分子検索法

Session X 寛容・免疫制御

1. CD25⁺4⁺T細胞による免疫制御の分子機構
2. CD25⁺T細胞の操作による腫瘍免疫の誘導
3. 寛容導入に対する特異的炎症の関与
4. 免疫系におけるニューロペプチドYの機能制御とシグナル伝達機構
5. 抗原特異的メモリーCD8⁺T細胞の形成と維持におけるIL-15の関与

棚橋雅幸, 横山智輝, 小林昌玄, 藤井義敬(名市大・医・第2外科)

長田拓哉, 岸 裕幸, 劉 慶理, 吉野友康, 松田 正, 村口 篤(富山医大・医・免疫)

鈴木 聡¹, 山口麻奈絵¹, 仲野 徹¹, 梶木俊聡², 小安重夫³, 鐔田武志³(¹阪大・微研, ²慶応大・微生物学, ³東京医科歯科大・難研・免疫)

座長: 湊 長博

坂倉純子¹, 安田好文², 木村恵利香¹, 緒方正人², 濱岡利之², 小杉厚¹(¹阪大・医・保健学科, ²バイオセ・腫瘍発生)

安田好文¹, 小杉 厚², 永福正和³, 皆木康子², 濱岡利之¹(¹阪大・医・バイオセ・腫瘍発生, ²保健学科)

田中義正, 湊 長博(京大院・生命科学)

横須賀忠¹, 高瀬 完¹, 高橋秀実², 荒瀬 尚¹, 斉藤 隆¹(¹千葉大・院医・遺伝子制御, ²日本医大・微生物免疫)

座長: 斉藤 隆, 中山俊憲

上野智雄, 原 恭子, 高浜洋介(徳島大・ゲノム機能研)

中山俊憲¹, Steven Ziegler², 山下政克¹, 木村元子¹(¹千葉大・院・免疫発生学, ²Virginia Mason Research Institute)

渋谷和子, 中内啓光, 渋谷 彰(筑波大・基礎医学系・免疫学, CREST)

横山智輝, 棚橋雅幸, 小林昌玄, 藤井義敬(名市大・医・第2外科)

高瀬 完, 竹内 新, 斉藤 隆(千葉大・院・医・遺伝子制御)

荒瀬 尚, 椎名律子, 大塚 誠, 荒瀬規子, 斉藤 隆(千葉大・院・医学研究科・遺伝子制御)

座長 坂口志文, 鈴木 元

清水 淳¹, 高橋武司², 山崎小百合², 坂口志文²(¹都老人研・免疫病理, ²京大・再生研・生体機能調節)

山崎小百合^{1,2}, 清水 淳³, 西岡 清², 坂口志文¹(¹京大・再生研・生体機能調節, ²東京医科歯科大・医・皮膚科, ³都老人研・免疫病理)

中田有紀子¹, 中川憲一², 蓼沼磨貴², 鈴木 元³(¹放医研・第3研究グループ, ²放射線障害医療, ³放影研・臨床研究部)

常世田好司, 辻川和丈, 山元 弘(阪大・院・薬学研究科・細胞生理学)

西村仁志¹, 矢島俊樹¹, 鈴木 操², Busch, D. H.³, Pamer, E. G.³, 吉開泰信¹(¹名大・医・病態研・生体防御, ²熊大・動物資源開発研究セ, ³Yale Univ. Sch. Med.)

第22回ガットホルモンカンファレンス主催(2000.7 静岡, 会長 器官形成応用分野 井上一知)

第3回近畿外科病態研究会主催(2000.10 大阪, 当番世話人 器官形成応用分野 井上一知)

文部省科学研究費・特定領域研究(B)「生殖細胞系列の制御と発生工学」による公開シンポジウム

「生殖細胞と再プログラム化——生殖系列研究と生殖工学・クローン動物」
(2000.11.23 キャンパスプラザ京都；主催 発生分化研究分野 中辻憲夫)

中 辻 憲 夫 (京大再生研)	: 「開会挨拶」
松 居 靖 久 (大阪府母子センター)	: 「始原生殖細胞の形成、分化機構」
野 瀬 俊 明 (三菱化学生命研)	: 「ES細胞から生殖細胞への in vitro 分化」
蓬 田 健太郎 (阪大微生物病研)	: 「生殖幹細胞の増殖と分化の制御機構」
篠 原 隆 司 (京大医学部)	: 「精原幹細胞濃縮法の開発」
若 山 照 彦 (ロックフェラー大)	: 「マウスの体細胞クローン」
角 田 幸 雄 (近畿大農学部)	: 「核の初期化と発生異常」
小 倉 淳 郎 (国立感染症研)	: 「雄性生殖細胞を用いた顕微授精と核移植クローン技術」
河 野 友 宏 (東京農大農学部)	: 「哺乳動物の発生に父母ゲノムが必要なわけ」
多 田 高 (京大再生研)	: 「体細胞から未分化細胞へ：ゲノム再プログラム化」

5. 協議員・教職員名簿

◆ 京都大学再生医科学研究所協議員 ◆

竹 市 雅 俊 (京都大学大学院生命科学研究科教授)
中 尾 一 和 (京都大学大学院医学研究科教授)
面 川 伸 一 (京都大学大学院医学研究科教授)
升 田 利史郎 (京都大学大学院工学研究科教授)
荒 木 光 彦 (京都大学大学院工学研究科教授)
塩 田 浩 平 (京都大学大学院医学研究科教授)

◆ 京都大学再生医科学研究所職員 (平成13年1月1日現在) ◆

所 長 山 岡 義 生

■ 生体機能学研究部門 ■

〈細胞機能調節学分野〉

教授：永田和宏 助手：細川暢子，久保田広志 講師（非常勤）：吉田賢右，矢原一郎，天野富美夫
技官：島田道子 事務補佐員：上田玉美

〈生体微細構造学分野〉

教授：鈴木康弘 講師：平芳一法 講師（非常勤）：花田敬吾，樋口京一 技官：小岸久美子

〈生体機能調節学分野〉

教授：坂口志文，助教授：石田靖雅 講師（非常勤）：中鶴修一，坂口教子 技能補佐員：石田嘉子，
山本恵津子

〈シミュレーション医工学分野〉

教授：堤 定美 助教授：玄 丞然 講師（非常勤）：南部敏之，茂木伸夫 非常勤研究員：彭 春
岩，中島直喜 教務補佐員：松村和明，中井隆介 事務補佐員：上村幸代，布施晴香

〈生体再建学分野（国内客員）〉

教授：児玉 亮 助教授：小阪美津子

■ 生体組織工学研究部門 ■

〈生体分子設計学分野〉

教授：開 祐司 助教授：宿南知佐 講師（非常勤）：近藤 淳，手塚建一，渥美忠男 リサーチア
ソシエイト：本多淳一，柴田洋之 技術補佐員：濱島久美子

〈生体材料学分野〉

教授：田畑泰彦 助手：山本雅哉 教務補佐員：洪 流 事務補佐員：高崎みゆき

〈組織修復材料学分野〉

教授：岩田博夫 講師（非常勤）：宇山良公，内田恵美子，尾形 栄 教務補佐員：戸田満秋 事務補佐員：鈴木義子

〈生物物性学分野（国内客員）〉

教授（併）：近藤隆彦

■ 再生統御学研究部門 ■

〈発生文化研究分野〉

教授：中辻憲夫 助教授：齋藤哲一郎 助手：多田 高 リサーチアソシエイト：末盛博文 技術補佐員：森部江美子，増井美哉子，田中ます子，山本ひろ美，忽那純子 事務補佐員：酒井睦美，久世敦美

〈再生誘導研究分野〉

教授：笹井芳樹 助教授：細川昌則 助手：河崎洋志 講師（非常勤）：野口 悟，清木 誠 技官：松下隆壽 非常勤研究員：村上龍庸 研究支援推進員：松田園子，池田容子 技術補佐員：櫻木誠，中野由香里，西山あやか 技能補佐員：渡辺知子 事務補佐員：湯浅貴子

〈再生増殖制御学分野〉

教授：瀬原淳子 助手：栗崎知浩 講師（非常勤）：早瀬尚文 非常勤研究員：黒原一人 事務補佐員：片岡和美

〈再生免疫学分野〉

教授：桂 義元 助教授：喜納辰夫 助手：藤本真慈 講師（非常勤）：佐渡敏彦，高沖宗夫，河本宏 技官：高沖悠子 技能補佐員：中川澄江

■ 生体システム医工学研究部門 ■

〈医用システム工学分野〉

助教授：富田直秀 講師（非常勤）：脇谷滋之 リサーチアソシエイト：慕 鷹

〈生体機械工学分野〉

教授：池内 健 助手：都賀谷紀宏 事務補佐員：林 宏美

〈生体システム制御学分野〉

選考中

〈再生医工学分野（外国人客員）〉

選考中

■ 再生医学応用研究部門 ■

〈生体修復応用分野〉

選考中

〈組織再生応用分野〉

教授：岡 正典 助教授：戸口田淳也 講師（非常勤）：速水 尚 非常勤研究員：村上 弘 事務補佐員：安田尚代

〈器官形成応用分野〉

教授：井上一知 助教授：宮本正章 講師（非常勤）：塚田敬義，野澤真澄，角昭一郎，中井一郎，藤 沢 章，千葉敏行，佐竹克介 非常勤研究員：藤間真紀 事務補佐員：安田美保

〈臓器再建応用分野〉

教授：清水慶彦 助教授：中村達雄 講師（非常勤）：早川克己 リサーチアソシエイト：大西克則，清水基行，劉 愉 技術補佐員：藤高実江子，西川裕美 事務補佐員：矢延聡枝

〈再生医学応用流動分野〉

助手：廣瀬哲朗

■ 附属再生実験動物施設 ■

施設長事務取扱（兼）：山岡義生 助教授：前田道之 講師（非常勤）：池原 進 技官：出口央士 研究支援推進員：安岡倉一，岸本好子，高橋一郎，石丸英典，山尾勝美，中野 孝 技能補佐員：人見博子，古卿智英

〈電子顕微鏡室〉

技官：増田 稔

〈研究室〉

技官：本間トキエ，今井保代

■ 事務部 ■

事務 長：大内 忠

庶務掛 長：八木定行 主任：野田敬子 事務官：木戸場大輔

研究協力掛長：三上隆典 主任：吉田善弘，岩田容子 事務補佐員：中瀬安子，能田直子

会計掛 長：大谷敏美 事務官：原田晶夫，八木 司 事務補佐員：戸嶋素子

Annual Report of the Institute for Frontier Medical Sciences
Kyoto University 2000

京都大学再生医科学研究所年報 2000

2001年2月23日印刷 2001年2月28日発行

発行 京都大学再生医科学研究所

京都市左京区聖護院川原町53 〒606-8507

印刷 株式会社北斗プリント社

